ISSN 0181-1584

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 4 Fascicule 4 1983 (1984)

Pr 6103 B

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12 RUE DE BUFFON, 75005 PARIS

BIBL. DU MUSEUM PARIS

PUBLICATION TRIMESTRIELLE SUBVENTIONNÉE PAR LE CENTRE [illegible] DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Source: MNHN, Paris

SOMMAIRE

BOISSELIER-DUBAYLE M.C. – Polymorphisme enzymatique chez *Pleurotus ferulae* et *Pleurotus nebrodensis* 321

HINZELIN F. & LECTARD P. – Microflore de la phyllosphère de quelques végétaux halophiles 333

VEGH I. & VELASTEGUI J. – Étude comparée de trois espèces de *Marssonina* salicicoles 345

JANEX-FAVRE M.C. & PARGUEY-LEDUC A. – Étude ultrastructurale des asques et des ascospores du genre *Tuber*. II. Les ascospores 353

LANQUETIN P. & BOIDIN J. – Obtention de mycéliums et de fructifications hybrides entre *Dichostereum durum* et *D. sordulentum* (Basidiomycètes). 375

Analyse bibliographique 403

Tables du Tome 4 405

Source : MNHN, Paris

Pr 6103 B

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 4 Fascicule 4 1983 (1984)

Ancienne Revue de Mycologie. Dirigée par Roger HEIM

DIRECTEUR DE LA PUBLICATION : Madame J. NICOT.
ADMINISTRATION : Mme LOCQUIN-LINARD M. et M. ZAMBETTAKIS Ch
SECRÉTAIRE DE RÉDACTION : Mme M.F. ROQUEBERT. ÉDITEUR : A.D.A.C.

Copyright © 1983. Cryptogamie Mycologie

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Bibliothèque Centrale Muséum

3 3001 00227782 9

Source : MNHN, Paris

CRYPTOGAMIE MYCOLOGIE

CONTENTS

(Tome 4, Fascicule 4, 1983)

BOISSELIER-DUBAYLE M.C. – Enzymatic polymorphism in *Pleurotus ferulae* and *Pleurotus nebrodensis* 321

HINZELIN F. & LECTARD P. – Phyllosphere microflora of some halophilic plants 333

VEGH I. & VELASTEGUI J. – Comparative study of three *Marssonina* spp. on *Salix* 345

JANEX-FAVRE M.C. & PARGUEY-LEDUC A. – Ultrastructural study of asci and ascospores in Truffles (g. *Tuber*). II. The ascospores 353

LANQUETIN P. & BOIDIN J. – Production of hybrid mycelia and fructification between *Dichostereum durum* and *D. sordulentum* (Basidiomycètes). 375

Bibliography 403

Index of Volume 4 (1983) 405

Source : MNHN, Paris

POLYMORPHISME ENZYMATIQUE CHEZ *PLEUROTUS FERULAE* ET *PLEUROTUS NEBRODENSIS*

par M.C. BOISSELIER-DUBAYLE*

RÉSUMÉ. – La technique d'électrophorèse de zone en gel de polyacrylamide et la révélation de différentes activités enzymatiques (estérases, aminopeptidases, phosphatases) sur les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de différents isolats révèle de grandes variabilités et s'avère un moyen efficace de préciser le déterminisme génétique apparent de certaines isoenzymes. Pour les types *ferulae* et *nebrodensis* analysés ici, on remarquera la faible variabilité interne observée au sein de chaque individu *P. nebrodensis*.

SUMMARY. – Zone electrophoresis on polyacrylamide gel, followed by a detection of esterase, aminopeptidase and phosphatase activities, have been performed on homokaryons and «restored» dikaryons originating from different isolates. The zymograms exhibited variable patterns, indicating that this electrophoretical technique is a good tool for genetic determination of some isoenzymes. When *P. ferulae* and *P. nebrodensis* are analysed, a weak internal variability was observed for each *P. nebrodensis* isolate.

Les divers représentants des Pleurotes des Ombellifères (Basidiomycètes) sont habituellement répartis en deux ou trois groupes de niveaux taxonomiques incertains. Leurs basidiocarpes se développent sur les racines mortes de différentes Ombellifères après une croissance parasitaire (CAILLEUX & al., 1983).

Les groupes sont définis par la spécificité vis-à-vis des plantes-hôtes, leur répartition géographique, et par les particularités morphologiques suivantes :

Pleurotus eryngii Fr. ex D.C. Quélet est généralement inféodé au Panicaut (*Eryngium campestre*) et sa répartition recouvre sensiblement celle de ses hôtes (CAILLEUX & al., 1980). Morphologiquement, il est caractérisé par sa petite taille et la couleur souvent foncée de son basidiocarpe.

* M.N.H.N., Laboratoire de Cryptogamie, 12 rue Buffon, 75005 Paris. – L.A. 257 et Laboratoire de Physiologie Cellulaire, Tour 53-43, Place Jussieu, 75230 Paris Cédex 05. – ERA 323.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE *(Cryptog., Mycol.)* TOME 4 (1983).

BIBL.DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

Pleurotus ferulae Lanzi se développe sur les racines des grandes Ombellifères du bassin méditerranéen (principalement *Ferula*). On le rencontre sur les côtes méditerranéennes et il a été signalé jusqu'en Israël (BINYAMINI, 1980). Il est souvent considéré comme simple forme du précédent mais s'en distingue morphologiquement par sa plus grande taille et la couleur toujours foncée de son basidiocarpe.

Pleurotus nebrodensis Inzenga est plutôt montagnard et propre aux grandes Ombellifères des zones subalpines de l'Europe (*Laserpitium*). Il a également été signalé sur *Diplotaenia* dans les montagnes du Sud de l'Iran (HEIM, 1960), sur *Ferulae* au Cachemire (WATLING & GREGORY, 1980) et a été récolté sur *Cachrys* en Sicile. Il est caractérisé par la grande taille, la couleur claire, presque blanche, de son basidiocarpe, et contrairement aux deux autres types précédents, il présente des lames anastomosées en réseau sur le stipe et une insertion souvent excentrée du piléus sur le stipe.

Notre étude s'insère dans les travaux de systématique réalisés sur les Pleurotes des Ombellifères : relations d'interfertilité et d'intercompatibilité (CAILLEUX & al., 1981), relations avec les plantes-hôtes (CAILLEUX & al., 1983), caryologie : méioses et stocks chromosomiques (SLEZEC, 1981 a, b), et estimation de la variabilité génétique de populations appartenant aux trois types de Pleurotes et d'origines géographiques différentes (BOISSELIER-DUBAYLE, 1981, 1983 a, b). Cette variabilité est abordée par l'étude du polymorphisme enzymatique, en utilisant la technique d'électrophorèse de zone en gel de polyacrylamide sur des extraits de protéines mycéliennes, suivie de la révélation de différentes activités enzymatiques (estérases, aminopeptidases, phosphatases).

L'analyse des protéines et des activités enzymatiques semble fournir des données intéressantes dans ce domaine. BAVENDAMM (1928) fut le premier à étudier des enzymes à des fins taxonomiques. Toutefois, la détermination d'enzymes dans des extraits bruts semble insuffisante pour donner des caractères fiables, et la technique d'électrophorèse est à présent très utilisée. Depuis les premiers travaux réalisés par CHANG & al. (1962) sur *Neurospora* et par CLARE (1963) sur *Pythium*, de nombreux travaux de systématique expérimentale ont été menés chez les champignons : parmi les plus récents, citons ceux de LÉGER (1976) sur *Peniophora*, GILL & ZENTMYER (1978), KAOSIRI & ZENTMYER (1980) sur *Phytophthora*, GEIGER & al. (1980) sur *Colletotrichum* et ceux de STIPES & al. (1982) sur *Endothia*. Les Basidiomycètes ont très rarement été soumis à ces techniques bien qu'ils offrent un matériel de choix par la possibilité de travailler sur des dicaryons «sauvages» («sauvages» = mycéliums issus de matériel récolté dans la nature), sur des homocaryons (mycéliums haploïdes issus de la germination de basidiospores), et sur des dicaryons «reconstitués» (mycéliums dicaryotiques issus de croisements entre homocaryons compatibles).

En vue d'établir des distances génétiques relatives basées sur le déterminisme génétique apparent de certaines isoenzymes, et après l'étude du type *eryngii* (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 a), nous rendons compte ici des résultats obtenus pour *P. ferulae* et *P. nebrodensis*.

Source : MNHN, Paris

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIEL

Nous avons analysé les isolats dont nous disposions au laboratoire. Pour *P. ferulae*, des basidiocarpes récoltés sur deux Férules différentes (*Ferula communis*) à Toulon (Sud de la France) en Octobre 1974 ont fourni l'isolat 291 issu d'un bouturage de fragment de chair et l'isolat 339 provenant d'un semis pluri-spores. Pour *P. nebrodensis*, les isolats 191 et 193 proviennent de deux basidiocarpes récoltés sur *Laserpitium latifolium* près d'Abriès (Queyras) en Septembre 1973. Ils sont issus de boutturages de fragments de chair et n'ayant pas plus de précision sur leur origine (même plante-hôte ou non), tous deux ont été analysés. L'isolat 491, issu de bouturage de fragment de chair, a été récolté près de Saint Bon (Savoie) sur *Laserpitium latifolium* en Septembre 1961. Une racine de *Cachrys ferulacea* infectée, récoltée dans les Monte Madonie (Sicile) en Mai 1979, a fourni l'isolat 585 issu du mycélium extrait de la racine de l'Ombellifère. Les isolats sont entretenus au laboratoire sur milieu Cristo-malt 2 %.

Après avoir obtenu la fructification, sur milieu synthétique (CAILLEUX & DIOP, 1976, 1978), de chacun de ces dicaryons «sauvages» de départ, l'isolement de basidiospores germées donne des homocaryons. Une dizaine d'homocaryons sont généralement analysés et les tableaux de confrontation (10 x 10) permettent de distinguer les groupes d'homocaryons compatibles qui conduisent à la formation des dicaryons «reconstitués». Les confrontations intra- et inter-types indiquent que tous ces isolats présentent des allèles d'incompatibilité différents. Sur milieu Cristo-malt, les confrontations inter-types présentent parfois des anses d'anastomoses plus rares que dans les confrontations intra-individu ou intra-type, et des confrontations négatives laissent présager d'une mauvaise dicaryotisation. Au sein de *P. nebrodensis*, elles mettent en évidence deux comportements distincts : les homocaryons de Sicile donnent un taux de confrontations à boucles abondantes moins important que celui observé lors des confrontations avec les homocaryons des Alpes. Cependant, les confrontations à boucles rares peuvent devenir pleinement positives sur le milieu à base de grains de céréales employé pour ensemencer le milieu pailleux de mise en fructification.

MÉTHODES

Culture, extraction et électrophorèse (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 a) : les mycéliums maintenus au laboratoire sur milieu Cristo-malt 2 % sont repiqués deux fois, à quinze jours d'intervalle, sur milieu gélosé Oddoux (ODDOUX, 1955), puis ensemencés sur milieu minéral liquide en boîtes de Roux. Après quatre semaines de croissance, les extraits de protéines solubles sont obtenus par broyage, centrifugation et dialyse. Pour les électrophorèses en tubes, sur gel de polyacrylamide (gel de prémigration 2,5 %; gel de migration 7 %), des quantités proches de protéines sont mises à migrer (150 µg de protéines détec-

Source : MNHN, Paris

tées par la méthode décrite par BRADFORD (1976). Les électrophorèses sont immédiatement suivies des révélations enzymatiques estérases, aminopeptidases et phosphatases.

Les zymogrammes estérases présentent généralement un nombre élevé de bandes dont la lecture est facilitée par l'utilisation simultanée des isomères α et β du naphtyl acétate qui mettent en évidence des formes enzymatiques ayant des affinités différentielles pour ces deux isomères. L'isomère α donne une coloration brune et l'isomère β une coloration rose des bandes. Afin de simplifier les résultats et de faciliter les interprétations, les profils sont divisés en trois zones caractéristiques : de faible migration, la zone A possède des bandes brunes; de migration intermédiaire, la zone B est caractérisée par des bandes roses; de forte migration, la zone C présente des bandes brunes. Les zymogrammes aminopeptidases présentent généralement peu de bandes : une bande de forte migration, très épaisse, et une ou deux bandes fines de plus faibles migrations. Les zymogrammes phosphatases extériorisent un polymorphisme intermédiaire, les bandes sont souvent épaisses et floues et la lecture des profils est parfois délicate.

Interprétation des résultats : les profils électrophorétiques observés sont transcrits en calculant les mobilités relatives des bandes par rapport à une bande de référence. L'étude des homocaryons permet une analyse génétique pour laquelle nous testons les différentes hypothèses de répartition homocaryotique (1/2-1/2) ou (1/4-1/4-1/4-1/4) en calculant la probabilité P d'observer une distribution au moins aussi dissymétrique. Les probabilités p(A) des différentes distributions possibles sont données par :

$$p(A) = \frac{x!}{x_1!\ x_2!\ \ldots\ x_m!}\ \frac{N!}{k_1!\ k_2!\ \ldots\ k_x!}\ \frac{1}{x}^{N}$$

où N est le nombre d'homocaryons analysés; x le nombre de types homocaryotiques observés; $k_1 \ldots k_x$ le nombre d'homocaryons appartenant à chacun de ces types ($k_1 + k_2 \ldots k_x = N$); et $x_1 \ldots x_m$ les nombres de fois où les nombres d'homocaryons de chacun des types sont identiques.

La probabilité P d'observer une distribution au moins aussi dissymétrique est la somme des probabilités d'apparition p(A) des répartitions plus dissymétriques ou au moins aussi dissymétrique que celle observée. La dissymétrie est appréciée par la distribution bi- ou polynomiale.

RÉSULTATS

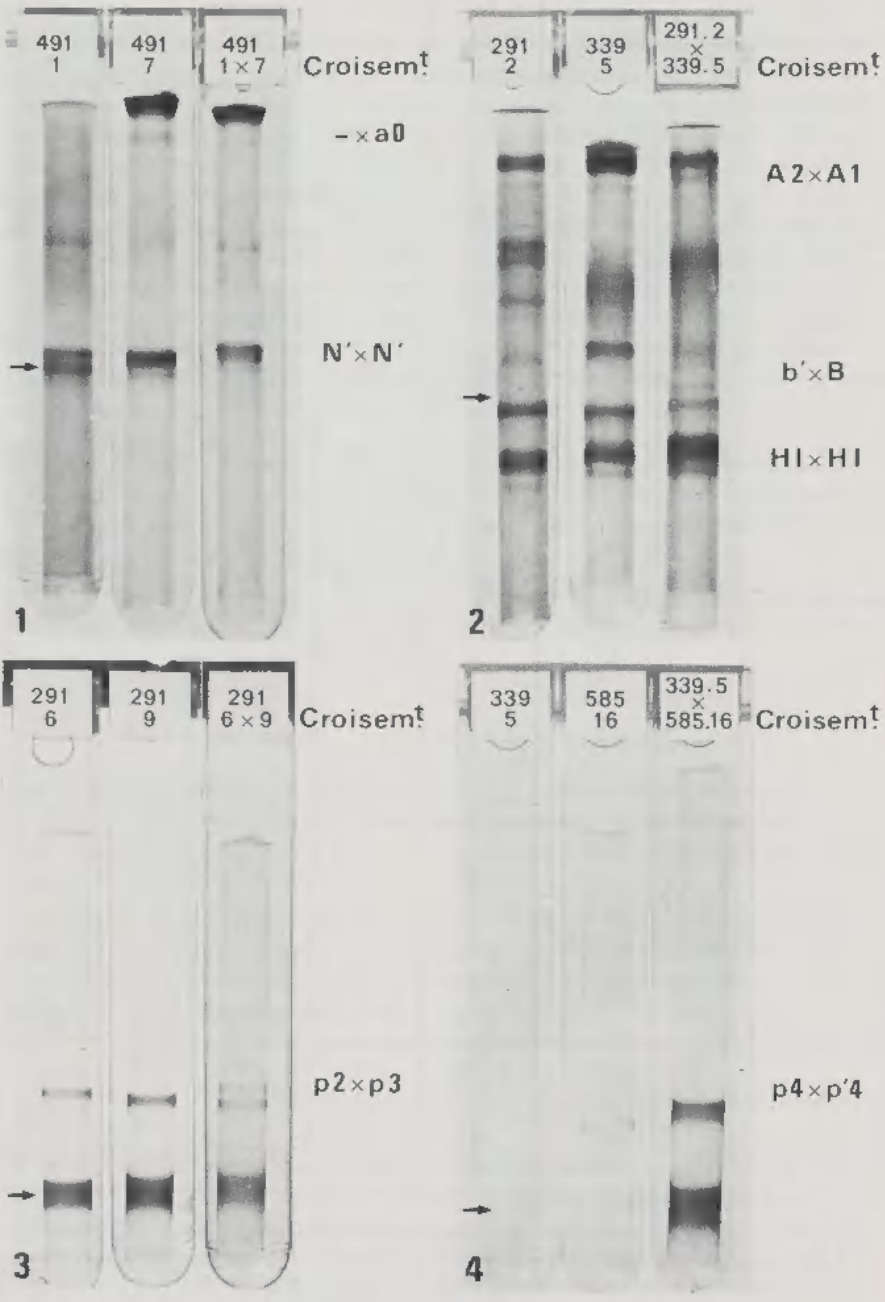
Les profils des différents dicaryons «sauvages» de départ sont distincts mais, par analogie de mobilité, certaines bandes semblent communes à deux ou plusieurs isolats (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 b). L'analyse des homocaryons révèle des variabilités internes et les différents types de profils homocaryotiques observés sont regroupés dans le Tableau 1. Afin de tester si les bandes d'activité enzymatique révélées correspondent à l'expression d'un gène ou de deux gènes à

Source : MNHN, Paris

Activités enzymatiques	Types homoc.	*P. ferulae*		*P. nebrodensis* Alpes		Sicile
		291	339	191-193	491	585
	–				7	8
ESTERASES	a0			12	2	
Zone A	A1		9	8		
	a1	5				
	A2	4				
P(1/2)		1,000	0,004*	0,503	0,180	0,008*
ESTERASES	B		6			8
Zone B	b'	9	3			
Isomère β	–			20	9	
P(1/2)		0,004*	0,509	0,000*	0,004*	0,008*
	S	9	6	20	9	8
	F		3			
ESTERASES		0,004*	0,509	0,000*	0,004*	0,008*
Zone B	–	9	9			
Isomère α	N					8
	N'			20	9	
P(1/2)		0,004*	0,004*	0,000*	0,004*	0,008*
	H'	2				
	H'I	3				
ESTERASES	HI	4	7			
Zone C	I		2			
	J					8
	–			20	9	
P(1/4 ou 1/2)		0,271	0,180	0,000*	0,004*	0,008*
	p1				6	
	p2	3		20	3	
AMINO-	p3	6				
-PEPTIDASES	p4		9			
	p'4					6
	p2p'4					2
P(1/2)		0,509	0,004*	0,000*	0,509	0,289
	α	9	5	20	5	
PHOSPHATASES	β		4			
	α'				4	8
P(1/2)		0,004*	1,000	0,000*	1,000	0,008*

Tab. 1. — Répartition des homocaryons suivant les différentes mobilités de bandes (types homocaryotiques : —, a0, A1 . . .), pour trois activités enzymatiques (estérases : zones A, B, C; aminopeptidase; phosphatases); P (1/2 ou 1/4) = probabilité d'une répartition aléatoire sous l'hypothèse de l'action d'un gène à deux allèles ou de deux gènes. * = différence significative au seuil 5 %, – = pas d activité enzymatique révélée.

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

un ou plusieurs allèles, nous avons effectué les tests de répartition homocaryotique et analysé des dicaryons «reconstitués» intra-individu, intra- et inter-types.

ESTÉRASES - ZONE A

P. ferulae : au niveau des dicaryons «sauvages» et sur l'étude des bandes de forte intensité, nous avons identifié deux types de profils électrophorétiques distincts (291:A2; 339:A1). Tous les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 339 sont de type A1 tandis que les homocaryons issus de 291 sont de deux types : profil A2 ou a1 (bande de faible intensité et de mobilité comparable à A1).

P. nebrodensis : les dicaryons «sauvages» 191 et 193 présentent une bande intense de mobilité A1 tandis que 491 et 585 ne révèlent aucune bande intense pour cette zone. Les homocaryons issus de 191 ou 193 sont de deux types : profil A1 ou a0 (bande de plus faible intensité et de migration quasiment nulle). Les homocaryons issus de 491 peuvent également être de deux types : profil a0 ou aucune activité (Figure 1, respectivement 491-7 et 491-1). Aucun homocaryon analysé pour 585 ne présente d'activité pour cette zone.

ESTÉRASES - ZONE ■ - ISOMERE β

P. ferulae : deux types de profils dicaryotiques «sauvages» ont été mis en évidence. Par analogie de mobilité, le profil 291 peut être assimilé au type b décrit chez *P. eryngii* (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 a), alors que celui de 339 est original (il présente au moins quatre bandes). Tous les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 291 présentent le profil dicaryotique «sauvage» tandis que les homocaryons issus de 339 sont de deux types : ils semblent correspondre aux profils B et b observés chez *P. eryngii*. Cependant, si les analyses des différents croisements intra- et inter-types confirment la similitude du type B chez *P. eryngii* et *P. ferulae*, elles mettent en évidence la dissemblance

Fig. 1 ■ 6 : électrophorèses en tubes de dicaryons «reconstitués» et de leurs homocaryons constitutifs, représentation de certains allèles identifiés (→ = bande de référence servant au calcul des mobilités relatives).

Fig. 1. — Révélation estérases, croisement intra-individu (*P. nebrodensis* Alpes). Zone A : le dicaryon issu d'un croisement «pas d'activité» (491-1) x a0 (491-7) présente un profil a0. Zone B, isomère α : les homocaryons et le dicaryon possèdent la bande N'.

Fig. 2. — Révélation estérases, croisement intra-type (*P. ferulae*). Zone A : le dicaryon issu d'un croisement A2 (291-2) x A1 (339-5) présente les deux bandes correspondantes. Zone B, isomère β : le dicaryon issu d'un croisement b' (291-2) x B (339-5) présente au moins quatre bandes. Zone C : les homocaryons et le dicaryon présentent le profil HJ.

Fig. 3. — Révélation aminopeptidases, croisement intra-individu (*P. ferulae*). Le dicaryon issu d'un croisement p2 (291-6) x p3 (291-9) présente les deux bandes correspondantes.

Fig. 4. — Révélation aminopeptidases, croisement inter-types (*P. ferulae* x *P. nebrodensis*). Le dicaryon issu d'un croisement p4 (339-5) x p'4 (585-16) présente deux bandes.

Source : MNHN, Paris

des types b (b et b'). Les croisements B x b' donnent un profil similaire à celui du dicaryon «sauvage» 339 (Figure 2, 291-2 = b', 339-5 = B).

P. nebrodensis : le dicaryon «sauvage» venant de la Sicile (585) montre un profil semblable au type B, tandis que les individus originaires des Alpes ne présentent qu'une bande rose (la bande de référence) (Figure 1). Aucune variabilité homocaryotique n'a été mise en évidence.

ESTÉRASES - ZONE B - ISOMERE α

P. ferulae : les différents mycéliums analysés présentent généralement une bande brune de mobilité à peine supérieure à la bande de référence et d'intensité moyenne. En plus de cette bande, le dicaryon «sauvage» 339 en révèle une seconde de mobilité plus forte, et l'analyse des homocaryons permet d'émettre l'hypothèse d'un système monomérique de type Fast-Slow.

P. nebrodensis : tous les dicaryons «sauvages», les homocaryons et les dicaryons «reconstitués» analysés présentent une bande brune intermédiaire aux bandes roses. Celle-ci a une mobilité distincte chez les individus des Alpes (N'-Figure 1) et l'individu originaire de la Sicile (N).

ESTERASE - ZONE C

P. ferulae : les deux profils dicaryotiques «sauvages» révèlent des bandes communes et une bande surnuméraire apparaît chez 291. L'analyse des homocaryons a permis de déceler trois types de profils chez 291, deux chez 339. Le type HI, commun à 291 et 339 (Figure 2, 291-2 et 339-5), présente généralement deux bandes intenses (qui peuvent être parfois plus ou moins confondues). Les types IH' et H' ont été rencontrés chez 291, et le type I est observé parmi les homocaryons issus de 339.

P. nebrodensis : les isolats récoltés dans les Alpes ne présentent aucune activité pour cette zone, tant au niveau dicaryotique qu'au niveau homocaryotique (Figure 1). L'isolat 585 (Sicile) révèle à tous les niveaux le même profil (J).

AMINOPEPTIDASES

P. ferulae : les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 339 ont tous le même profil : une bande épaisse et généralement intense (bande de référence) et une bande fine de mobilité p4 : profil similaire à celui décrit chez *P. eryngii* pour la population de Tournus. Une bande de très faible intensité et de plus faible mobilité peut être décelée à l'état dicaryotique, elle ne se retrouve pas ou est très faiblement marquée au niveau homocaryotique et ne semble pas correspondre à un quelconque déterminisme génétique. Cependant, le dicaryon 291 présente deux bandes fines de mobilités p2 et p3, et les homocaryons n'en possèdent qu'une : p2 ou p3 (Figure 3, respectivement 291-6 et 291-9).

P. nebrodensis : lors des premières analyses sur les dicaryons «sauvages», les profils des isolats originaires des Alpes ont été jugés similaires : deux bandes

Source : MNHN, Paris

fines de mobilités p1 et p2. Cependant, tous les homocaryons et dicaryons «reconstitués» analysés pour 191 et 193 présentent une bande p2 alors que la bande p1, tout comme pour 339, ne semble pas correspondre à un quelconque déterminisme génétique. Par contre, les homocaryons de 491 sont de deux types : p1 ou p2.

Le dicaryon «sauvage» 585 aux bandes de mobilités comparables à p 2 (mais plus épaisse) et p4, contrairement aux résultats obtenus précédemment, peut donner des homocaryons présentant les deux bandes dicaryotiques «sauvages», ou des homocaryons ne révélant qu'une bande de mobilité p4. Les croisements intra- et inter-types confirment la similitude du type p2 bien qu'elle soit plus épaisse, mais mettent en évidence la dissemblance des types p4 : p4 et p'4 (Figure 4, respectivement 339-5 et 585-16).

PHOSPHATASES

P. ferulae : les profils dicaryotiques «sauvages» 291 et 339 semblent différents et l'analyse des homocaryons confirme cette dissemblance. Tandis que

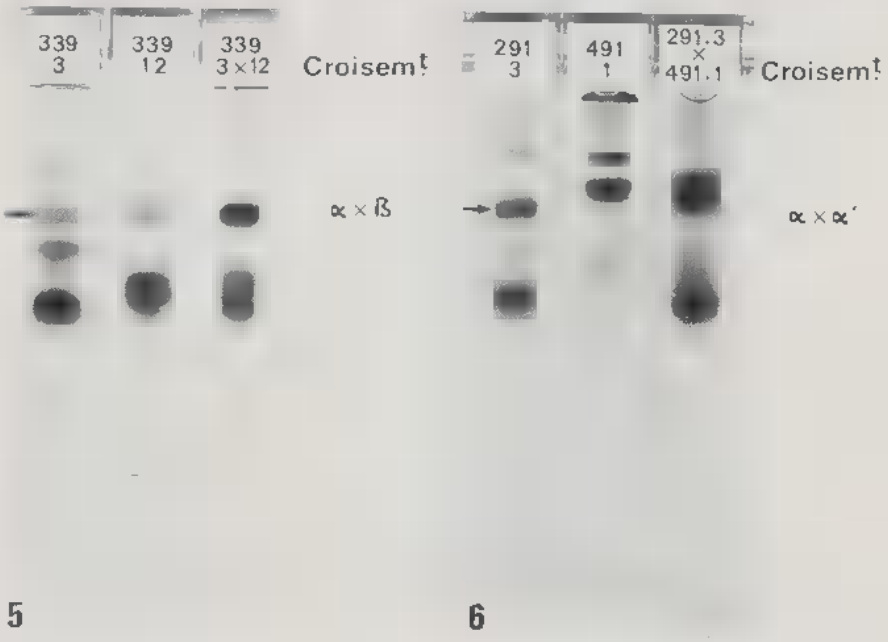


Fig. 5. — Révélation phosphatases, croisement intra-individu (*P. ferulae*). Le dicaryon issu d'un croisement α (339-3) x β (339-12) présente le cumul des bandes de fortes migrations.

Fig. 6. — Révélation phosphatases, croisement inter-types (*P. ferulae* x *P. nebrodensis*). Le dicaryon issu d'un croisement α (291-3) x α' (491-1) présente un cumul de bandes au niveau de la bande de référence.

Source : MNHN, Paris

les homocaryons et dicaryons «reconstitués» issus de 291 présentent tous le même profil α, on discerne les deux types de profils α et β décrits chez *P. eryngii* pour la population de Tournus (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983) parmi les homocaryons issus de 339 (Figure 5, respectivement 339-3 et 339-12).

P. nebrodensis : tous les profils dicaryotiques «sauvages» ont été jugés similaires dans un premier temps (BOISSELIER-DUBAYLE, 1983 b), et caractérisés par une bande de référence de mobilité plus faible (type α'). Cependant, l'analyse des homocaryons et des dicaryons «reconstitués» intra- et inter-types révèle que si tous les homocaryons issus de 585 sont bien de type α', ceux de 491 peuvent être soit de type α, soit de type α' (les dicaryons reconstitués α x α' présentent alors le cumul des bandes de référence - Figure 6), et que ceux issus de 191 et 193 sont tous de type α.

Le tableau 1, qui résume les répartitions homocaryotiques observées, permet, par le biais des tests de répartition 1/2 ou 1/4, de confirmer les hypothèses émises. L'analyse de dicaryons intra- et inter-types souligne l'homologie ou la dissemblance des bandes révélées, et l'ensemble de ce travail permet de définir les génotypes apparents des différents individus analysés (Tableau 2).

Types	Isolats	Zone A	Zone B		Zone C	AMINO-PEPTIDASES	PHOSPHATASE
			Isomère α	Isomère α'			
P. nebrodensis	339 339	α/α α/α'	α'/α' α'/α'	-/- -/-	+/+ +/-	β2/β2 β2/β2	α'/α' α'/β
P. nebrodensis	191 x 193 191 193	α/α' α'/α' -/-	-/- -/- -/-	β'1/β'1 β'2/β'2 β'1/β'1 β'2/β'2 β'1/β'1 β'2/β'2	-/- -/- -/-	β2/β2 β'2/β'2 β'2/β'2 β'1/β'1	α/α α/α' α'/α'

Tab. 2. - Génotypes des dicaryons «sauvages» de départ, tels qu'on peut les définir par l'analyse électrophorétique d'homocaryons et de dicaryons «reconstitués», pour trois activités enzymatiques.

DISCUSSION

Trois observations se dégagent de ce travail :

-- Chez les champignons, les travaux de systématique expérimentale abordés par le biais de l'électrophorèse, au niveau spécifique ou subspécifique, portent sur des souches non contrôlées génétiquement (exemple : cultures polyspermes étudiées pour les basidiomycètes du genre *Peniophora* - LÉGER, 1976). L'interprétation parfois erronée que peut induire une étude sur les seuls profils dicaryotiques «sauvages» (pour les phosphatases, par exemple) souligne l'intérêt d'utiliser du matériel homocaryotique et dicaryotique «reconstitué».

L'analyse des homocaryons et des dicaryons «reconstitués» révèle de grandes variabilités et s'avère un moyen efficace de préciser le déterminisme

Source : MNHN, Paris

génétique apparent de certaines isoenzymes. Les tests de répartition homocaryotique et l'analyse des dicaryons «reconstitués» intra-individu, intra- et inter-types indiquent que la plupart des bandes d'activité enzymatique semblent correspondre à l'expression d'un gène à plusieurs allèles. Cependant, les résultats obtenus pour la zone C des estérases au niveau de *P. ferulae*, et plus particulièrement au niveau de l'individu 291, laissent supposer l'action de deux gènes. Il en est de même pour les aminopeptidases révélées chez l'individu *P. nebrodensis* de Sicile (585) où un gène commun à tous nos isolats pourrait être responsable de l'expression (ou non) de la bande de mobilité p2, et où un second gène propre à cet individu serait responsable de la bande d'activité p'4.

Une faible variabilité est observée au sein de *P. nebrodensis*, elle ne se manifeste qu'au niveau de la zone A des estérases pour 191 et 193, et au niveau des aminopeptidases pour 585. Les premières conclusions tirées de l'étude électrophorétique des dicaryons «sauvages» de départ par l'estimation d'indices de similitude indiquent que, d'une manière générale, *P. nebrodensis* semble plus éloigné de *P. eryngii* et *P. ferulae*, assez proches entre eux, et mettent en évidence deux groupes parmi *P. nebrodensis*, l'un correspond aux Alpes (*Laserpitium*) et l'autre à la Sicile (*Cachrys*). Ces conclusions sont confirmées par les génotypes particuliers identifiés (pas d'activité pour la zone B - isomère β, et la zone C des estérases, au sein de *P. nebrodensis* des Alpes, allèle p'4 des aminopeptidases, propre à l'individu *P. nebrodensis* de Sicile), et par leurs facultés à former des anses d'anastomoses lors des confrontations intra- et inter-types.

BIBLIOGRAPHIE

BAVENDAMM W., 1928 – Uber das Vorkommen und Nachweis von Oxydasen bei holzzerstörenden Pilzen. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* 38 : 257-276.

BINYAMINI N., 1980 – Succession of Israeli Agaric flora. *Nova Hedwigia* 32 : 185-198.

BOISSELIER-DUBAYLE M.C., 1981 Étude du polymorphisme enzymatique chez les Pleurotes des Ombellifères. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* Sér. III, 292 : 1221-1226.

BOISSELIER-DUBAYLE M.C., 1983 a Étude du polymorphisme enzymatique d'une population de Pleurotes des Ombellifères : *Pleurotus eryngii* (Tournus, France). *Can. J. Bot.* 61 : 458-465.

BOISSELIER-DUBAYLE M.C., 1983 b Taxonomic significance of enzyme polymorphism among isolates of *Pleurotus* (Basidiomycetes) from Umbellifers. *Trans. Br. mycol. Soc.* 81 : 121-127.

BRADFORD M., 1976 – A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analit. Biochem.* 72 : 248.

CAILLEUX R. et DIOP A., 1976 – Recherches préliminaires sur la fructification en culture du *Pleurotus eryngii* (Fr. ex D.C.) Quélet. *Rev. de Mycol.* 40 : 365-388.

CAILLEUX R. et DIOP A., 1978 – La fructification du *Pleurotus eryngii* en conditions de culture non stériles et ses incidences pratiques. *Rev. de Mycol.* 42 : 1-11.

Source : MNHN, Paris

CAILLEUX R., DIOP A., SLEZEC A.M. et JOLY P., 1980 – Variabilité de la fructification du *Pleurotus eryngii* en culture. *Cryptog., Mycol.* 1 : 119-138.

CAILLEUX R., DIOP A. et JOLY P., 1981 – Relations d'interfertilité entre quelques représentants des Pleurotes des Ombellifères. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 97 : 97-124.

CAILLEUX R., CERCEAU-LARRIVAL M.Th., HAMEL J.L. et JOLY P., 1983 – Étude d'une station de *Pleurotus eryngii* DC ex Fr. : peuplements de Panicauts et peuplements de Pleurotes. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 99 : 157-202.

CHANG L.O., SRB A.M. and STEWARD F.C., 1962 – Electrophoretic separations of the soluble proteins of *Neurospora*. *Nature* (London) 193 : 756-759.

CLARE B.G., 1963 – Starch gel electrophoresis of proteins as an aid in identifying fungi. *Nature* (London) 200 : 803-804.

GEIGER J.P., LOURD M. et HUGUENIN B., 1980 – Les *Colletotrichum* agents d'Anthracnose en Côte d'Ivoire - II - Polymorphisme enzymatique dans une collection d'isolats de *Colletotrichum gloeosporioïdes* Penz. *Ann. Phytopathol.* 12 : 177-191.

GILL H.S. and ZENTMYER G.A., 1978 – Identification of *Phytophthora* species by disc electrophoresis. *Phytopathology* 68 : 163-167.

HEIM R., 1960 – Le Pleurote des Ombellifère en Iran. *Rev. de Mycol.* 25 : 242-247.

KAOSIRI R. and ZENTMYER G.A., 1980 – Protein, esterase and peroxydase patterns in the *Phytophthora palmivora* complex from Cacao. *Mycologia* 72 : 988-1000.

LÉGER J.C., 1976 – Analyse électrophorétique et taxonomie numérique dans le genre *Peniophora* Cooke (Basidiomycètes). *Bull. Soc. Mycol. Fr.* 92 : 377-392.

ODDOUX L., 1955 – Recherches sur les mycéliums secondaires des Homobasidiés en culture pure. Morphologie, cytologie, exigence alimentaire. Thèse Lyon, 346 p.

SLEZEC A.M., 1981 a – Méiose de l'Agaricale *Pleurotus eryngii* (DC ex Fr.) Quél. : description et détermination du nombre chromosomique par reconstitution tridimentionnelle des complexes synaptonématiques. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* Sér. III, 292 : 523-528.

SLEZEC A.M., 1981 b – A propos de deux types d'anomalies obtenues chez *Pleurotus eryngii* (D.C. ex Fr.). Quélet, en culture. *Cryptog., Mycol.* 2 : 245-255.

STIPES R.J., EMERT G.H. and BROWN R.D., Jr., 1982 – Differentiation of *Endothia gyrosa* and *Endothia parasitica* by disc electrophoresis of intramycelial enzymes and proteins. *Mycologia* 74 : 138-141.

WATLING R. and GREGORY N.M., 1980 – Larger fungi from Kashmir. *Nova Hedwigia* 32 : 493-564.

Source : MNHN, Paris

MICROFLORE DE LA PHYLLOSPHERE DE QUELQUES VÉGÉTAUX HALOPHILES

par F. HINZELIN et P. LECTARD*

RÉSUMÉ. – Les auteurs étudient les levures de la phyllosphère de quelques plantes halophiles. La nature et l'état de la cuticule influent considérablement sur la population levuriforme. Le genre *Sporobolomyces*, le genre *Rhodotorula* et le genre *Cryptococcus* sont particulièrement représentés. La population pigmentée domine nettement la population dite «blanche». La flore levuriforme des plantes halophiles diffère peu de celle des autres végétaux, elle semble plus spécifique.

ABSTRACT. – The authors learn the yeasts of the phyllosphere of some halophilic plants. The nature and the condition of the cuticle have a great influence on the yeast population. The *Sporobolomyces* genus, the *Rhodotorula* genus and the *Cryptococcus* genus are particularly represented. The pigmented population plainly dominates the population called «white». The yeast flora of the halophilic plants is a little different from the one of the other plants, it seems to be more specific.

MOTS CLÉS : Levures - Phyllosphère - Halophytes.

INTRODUCTION

Les études précédemment réalisées sur les levures en milieu aquatique (HINZELIN 1973-1977), nous ont amenés à rechercher l'origine de ces microorganismes en dehors des zones de pollution où l'apport de levures est en relation avec les activités humaines. Le couvert végétal doit être un réservoir important à partir duquel les levures peuvent être entraînées dans les eaux.

Nous avons choisi d'étudier les plantes se développant sur les sols halomorphes, biotope naturel, en choisissant des stations à l'écart des contaminations dues à l'homme ou aux animaux d'élevage.

* Laboratoire de Cryptogamie - Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 5, rue Albert Lebrun - 54000 Nancy.

Source : MNHN, Paris

Ière PARTIE

I. – LES STATIONS HALOPHILES EN LORRAINE

Les principales stations halophiles lorraines se trouvent dans le bassin délimité par les 3 villes : Vic-sur-Seille, Château-Salins et Dieuze.

Cette région (Nord-Est de la France, Département de la Moselle) correspond à un quadrilatère de 20 km de long sur 12 km de large, arrosé par 3 rivières.

Les stations salées sont signalées par des étendues presque stérilisées par l'eau salée, ou occupées par la Salicorne lorsque la teneur du sol en chlorurres n'est pas trop élevée.

Nous avons retenu pour cette étude, deux stations situées dans la vallée de la Seille :

- **Marsal** : La station se trouve dans les anciens fossés de la citadelle. Elle correspond à un suintement d'eau très salée (de 0,83 à 1,09 mole par litre) au centre d'une zone dénudée. En bordure se développent des groupements à *Salicornia ramosissima* Woods, très dispersés.

Un verger de mirabelliers (*Prunus* x *syriaca* Borkh) domine cette source salée et le fossé de drainage.

– **Lagrange-Fouquet** : Cette station se situe à proximité de Vic-sur-Seille, derrière une ferme. C'est un vaste pré clôturé parcouru par de nombreux canaux de drainage, séparés par des buttes sur lesquelles se développe abondamment *Althaea officinalis* L.

Autour d'une étendue plus ou moins importante stérilisée par l'eau salée ou occupée par *Salicornia ramosissima* Woods, on observe des zones envahies par des plantes de plus en plus tolérantes.

II. – LA FLORE HALOPHILE

Choix des espèces

Nous avons sélectionné 6 espèces :

Les halophytes stricts sont des plantes qui se développent uniquement sur des terrains salés. Les espèces choisies sont : 1 - *Salicornia ramosissima* Woods, 2 - *Atriplex hastata* L., 3 - *Aster tripolium* L., 4 - *Juncus gerardii* Loïs. Parmi les espèces halophiles préférentes, nous avons choisi : 5 - *Althaea officinalis* L. En outre, nous avons retenu une plante qui n'a aucun lien avec les sols halomorphes, mais qui pousse à proximité de la station de Marsal : 6 - *Prunus* x *syriaca* Borkh.

Description et écologie

- *Salicornia ramosissima* Woods (Chénopodiacées)

C'est la plante la plus caractéristique des milieux salés. Elle colonise les dépressions humides où le sol présente une forte salure, mais elle ne tolère pas

Source : MNHN, Paris

de longues périodes de submersion, notamment lors de la période de reproduction. En mars, lorsque le terrain est fortement humide, mais non inondé, les premières germinations apparaissent. A la fin de l'été, elle fructifie, elle prend une teinte rouge vin. En hiver, il ne subsiste que des résidus desséchés.

* *Atriplex hastata* L. var. *oppositifolia* (Chénopodiacées)

Cette plante est capable de tolérer de fortes concentrations en sel, mais n'est représentée que par quelques plantules qui se situent en bordure de la dépression occupée par la Salicorne.

* *Aster tripolium* L. (Astéracées)

Elle occupe les parties basses et humides des stations halophiles et cerne la zone occupée par la Salicorne.

* *Althaea officinalis* L. (Malvacées)

Elle possède un appareil sécréteur constitué par des cellules et des poches à mucilage. Elle se développe sur les buttes.

* *Juncus gerardii* Loïs (Joncacées)

La jonchaie borde les cuvettes à Salicorne sur des surfaces plus ou moins étendues. Le jonc se développe dès que le sol est un peu surélevé. La végétation démarre dès le mois de mars. Cette plante vivace présente des feuilles glabres, longues. La floraison est peu visible. En automne, les parties aériennes jaunissent et sèchent.

* *Prunus* x *syriaca* Borkh. (Rosacées)

C'est un arbre, les feuilles sont entières et dentées. Il fleurit début mai, ses fruits sont à maturité courant août. La cuticule de ceux-ci serait colonisée par les levures.

III. – LA PHYLLOSPHERE

La surface des feuilles constitue un biotope spécial dans lequel l'activité des micro-organismes fluctue avec les conditions extérieures et avec le cycle de vie de la feuille-support.

C'est LAST (1955) et RUINEN (1956) qui emploient les premiers le mot «phyllosphère». Elle constitue un des biotopes les plus étroitement liés aux caractéristiques du milieu environnant.

Composition chimique de la cuticule

Les cellules épidermiques sécrètent à la surface de la feuille une cuticule contenant des dérivés lipidiques très hydrophobes, des cires en particulier. La production de cire est fonction de l'intensité lumineuse.

La cuticule des plantes supérieures ne présente pas une composition chimique homogène. Les constituants chimiques de la cuticule ont été recensés par O.C. MACNAMARA, Ch. DICKINSON (1981). Les principaux composants sont des lipides, des cires, de la cutine, de la cellulose et de la pectine.

Source : MNHN, Paris

Adaptations particulières des plantes halophiles

Les plantes halophiles ont des feuilles épaisses. Leurs stomates sont fréquemment incrustés dans l'épiderme. Leur nombre est en général faible. Quelques espèces halophiles comme *Salicornia* possèdent des cellules scléreuses au niveau des nervures et de l'épiderme. Les cellules scléreuses peuvent atteindre de grandes tailles chez les plantes poussant sous de fortes concentrations salines.

Rapports Phyllosphère-Levures

La feuille est le siège d'échanges importants avec l'extérieur, par des phénomènes d'excrétion et d'absorption.

La vie dans la phyllosphère est très instable, elle varie en l'espace de quelques jours, suivant les conditions météorologiques, suivant la présence ou l'absence d'aliments exogènes. L'association de ces facteurs peut exercer une action synergique sur l'évolution de la microflore phyllosphérique. RUINEN (1956) pense que la phyllosphère est un biotope pour les levures.

Bien que représentant une grande uniformité morphologique, les levures ne constituent pas une unité taxinomique naturelle. Généralement unicellulaires, elles se reproduisent végétativement par bourgeonnement ou par scissiparité. Certains genres de levures présentent une reproduction sexuée.

Trois grandes sous-divisions apparaissent :

les Ascomycotina - les Basidiomycotina - les Deuteromycotina

Cette dernière est particulièrement représentée au niveau de la phyllosphère avec deux familles importantes :

- celle des Sporobolomycétacées, - celle des Cryptococcacées.

IIème PARTIE

I. — TECHNIQUES D'ÉTUDE

De nombreuses techniques d'isolement ont été décrites :

— LAST et PRICE (1969) décrivent une méthode préconisant l'impression de la feuille à tester.

— BEECH et DAVENPORT (1971) étudient la flore levuriforme des feuilles de pommier et de vigne, en vue d'examen quantitatif.

— DICKINSON (1971) utilise des méthodes de lavage et d'impression. D'autres méthodes comme la macération des feuilles, la méthode des «spores-fall» sont aussi pratiquées.

— PUCH et BUCKLEY (1971) décrivent des méthodes d'études et d'isolement des espèces de levures colonisant la surface des feuilles. Ils se servent surtout de matériel végétal ayant été agité dans de l'eau, puis déposé à la surface d'un milieu nutritif. L'eau de lavage est elle-même ensemencée sur un milieu adéquat.

Source : MNHN, Paris

L'association de plusieurs de ces méthodes permet d'étudier la population de levures à la surface d'une feuille.

1) Récolte des plantes

Nous avons récolté, dans des récipients stériles, les feuilles appartenant aux différentes espèces botaniques citées plus haut.

Nous évitons les échantillons souillés de terre. Nous prélevons des feuilles de maturité différente; les époques de récolte tiennent compte de l'évolution de la végétation : avril, juin, octobre.

2) Méthodes d'isolement

à partir d'un fragment de feuilles

Nous avons déposé sur le milieu d'isolement préalablement coulé en boîte de Pétri, les fragments végétaux. Ces derniers restent 3 jours dans la boîte.

Le milieu d'isolement est composé de : - glucose (20 g); - peptone (10 g); - extrait de levure (5 g); - agar (20 g); - chloramphénicol (0,5 g); - eau q.s.p. 1 l (pH $\simeq$ 5).

après lavage du morceau foliaire

On utilise le même principe d'isolement, à partir du fragment lavé. L'eau de lavage est filtrée sur Millipore 0,45 μm de porosité HAWP 02500. Le filtre balaie la surface du milieu d'isolement et y reste.

la méthode par impression

La feuille est appliquée fortement sur le milieu et est aussitôt retirée. Elle laisse son empreinte. Les contours et les nervures du fragment végétal sont reproduits par les colonies de levures.

3) Lecture - Identification

L'incubation est faite à la température du laboratoire . Les colonies sont repiquées sur un milieu de Sabouraud additionné de chloramphénicol.

L'identification des différentes espèces a été effectuée selon les méthodes préconisées par LODDER (1970).

II. – RÉSULTATS

Par ces méthodes, nous avons isolé et identifié 12 espèces de levures.

Répartition botanique des espèces isolées

Classification établie suivant AINSWORTH-SPARROW-SUSSMAN (1973).

1. BASIDIOMYCOTINA : *Aessosporon* sp.
2. DEUTEROMYCOTINA
   - Blastomycètes
     a) les Sporobolomycétacées
        Sporobolomyces holsaticus Windisch

Source : MNHN, Paris

Sporobolomyces odorus Derx
Sporobolomyces roseus Kluyver et van Niel
Sporobolomyces salmonicolor (Fischer et Brebeck) Kluyver et van Niel

b) les Cryptococcacées

1 - genre *Cryptococcus*
Cryptococcus albidus (Saito) Skinner
Cryptococcus laurentii (Kuff.) Skinner var. *laurentii*
Cryptococcus laurentii (Kuff.) Skinner var. *magnus*

2 - genre *Rhodotorula*
Rhodotorula glutinis (Fres.) Harrison
Rhodotorula glutinis (Fres.) Harrison var. *glutinis*
Rhodotorula graminis Di Menna

3 - genre *Torulopsis*
Torulopsis candida (Saito) Lodder

Nos études précédentes (HINZELIN, 1973-1977) ont montré l'intérêt de regrouper les genres en deux sections : les levures à pigments caroténoïdes (*Sporobolomyces - Rhodotorula*) d'une part, les levures dites «blanches» d'autre part.

Les levures pigmentées en rouge

Le tableau n° 1 récapitule les genres isolés en fonction du végétal-support et de l'époque.

Tableau n° 1
Tableau récapitulatif des différentes levures, classées par genre

	Salicornia			*Atriplex*			*Aster*			*Althaea*			*Juncus*			*Prunus*		
	J	O	A	J	O	A	J	O	A	J	O	A	J	O	A	J	O	A
Sporobolymyces	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	
Rhodotorula	+						+			+			+			+		
Cryptococcus	+	+		+	+		+	+		+	+					+	+	
Torulopsis	+			+												+		
Aessosporon	+																	

J : Juin; O : Octobre; A : Avril

Nous constatons que, parmi les différents genres, ceux présentant des pigments caroténoïdes, apparaissent majoritaires.

Le genre *Sporobolomyces* domine nettement.

Le tableau n° 2 mentionne dans le détail les espèces isolées suivant le végétal considéré.

Nous remarquons alors que *Sporobolomyces roseus* est abondante, suivie de *Rhodotorula glutinis*.

Deux remarques négatives :

Source : MNHN, Paris

Tableau n° 2

Tableau récapitulatif des différentes levures classées par espèces

	Salicornia	*Atriplex*	*Aster*	*Althaea*	*Juncus*	*Prunus*
Sporobolomyces holsaticus					X	
Sporobolomyces odorus				X		
Sporobolomyces roseus	X	X	X			X
Sporobolomyces salmonicolor	X					
Rhodotorula glutinis var. *glutinis*			X		X	
Rhodotorula glutinis	X					X
Rhodotorula graminis				X		
Cryptococcus albidus				X		
Cryptococcus laurentii var. *laurentii*	X	X	X	X		
Cryptococcus laurentii var. *magnus*						X
Torulopsis candida	X	X				X
Aessosporon sp.	X					

1) Aucune levure à pigments caroténoïdes n'a été isolée au mois d'avril.

2) *Rhodotorula rubra*, levure ubiquiste des zones plus ou moins polluées (HINZELIN, 1978) est absente de ces stations protégées.

Les levures blanches

Seul le genre *Cryptococcus* est largement représenté (tableau n° 1). Le tableau n° 2 montre la fréquence importante de *Cryptococcus laurentii*. Ce dernier est aussi absent, en avril. Enfin, en très faible proportion, nous trouvons quelques levures «blanches» avec *Torulopsis candida*.

Nous remarquons l'absence d'espèces potentiellement pathogènes pour l'homme comme *Candida albicans* et de ses commensaux *Geotrichum* sp. et *Trichosporon* sp., espèces naturellement inféodées à l'Homme.

III. – DISCUSSION

Les espèces isolées, représentées par les genres : *Sporobolomyces*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus* et *Torulopsis* sont fréquentes sur les cuticules des feuilles des plantes halophiles.

Les feuilles semblent être un habitat privilégié pour certaines levures. Dès 1930, DERX indique que le genre *Sporobolomyces* est communément identifié sur de nombreuses feuilles.

Les espèces régulièrement rencontrées sont des levures pigmentées; les levures blanches sont, pour la plupart, isolées irrégulièrement. Les levures trouvées

Source : MNHN, Paris

fréquemment sur les feuilles sont des espèces capables d'assimiler une grande variété de composés carbonés, tandis que les *Saccharomyces* et les *Pichia*, plus exigeantes, préfèrent des milieux plus riches en sucres (CARMO-SOUSA, 1969).

DI MENNA (1971) explique également l'absence de levures fermentatives, caractéristiques des milieux riches, par le fait que le milieu nutritif de la surface foliaire est généralement pauvre.

La présence de *Torulopsis candida* dans nos résultats est intéressante, car elle est la forme imparfaite de *Debaryomyces hansenii*. Or cette levure résiste à des teneurs en sel de l'ordre de 24 %. COSTELOW et coll. (1954) ont d'ailleurs isolé cette espèce à partir de salaisons.

Les espèces «blanches» sont surtout représentées par *Cryptococcus laurentii*. Nous avons isolé aussi un *Cryptococcus albidus* sur les feuilles d'*Althaea*. Cette dernière espèce fréquente dans le sol est plus rarement isolée au niveau des feuilles (DI MENNA, 1959). Les levures saprophytes, du genre *Cryptococcus* plus particulièrement, sont douées d'une activité cutinolytique considérable (MACNAMARA-DICKINSON, 1981).

Mais la majorité de la population levuriforme de la phyllosphère est représentée par des espèces à pigments caroténoïdes avec les genres *Sporobolomyces* et *Rhodotorula*.

RUINEN (1963) pense que des saprophytes à la surface des feuilles peuvent dégrader la cutine et l'utiliser comme source nutritive. Et en 1966, RUINEN et HEINEN et DE VRIES (1966) montrent que deux levures ubiquistes de la phyllosphère : *Cryptococcus laurentii* et *Rhodotorula glutinis* sont en effet capables d'hydrolyser la cutine.

MACNAMARA et DICKINSON (1981) abondent dans ce sens, en étudiant la dégradation de la cuticule par les champignons saprophytes. *Cryptococcus laurentii* et *Sporobolomyces roseus* utilisent la cutine de l'*Ilex*, comme source de nutriments quand elles se développent dans un milieu de base liquide.

Le tableau n° I traduit l'abondance du genre *Sporobolomyces*, plus particulièrement en période estivale. LAST (1955) a observé une corrélation entre l'augmentation du nombre de colonies de *Sporobolomyces* et l'âge de la feuille. Selon cet auteur, ceci serait dû à l'état végétatif de la feuille qui libère, en vieillissant des aliments nécessaires à la croissance de ces microorganismes. De nombreux *Sporobolomyces* se développent considérablement lorsque les feuilles sont parasitées par des micromycètes appartenant à la famille des Pucciniacées, par des nématodes ou par des galles provoquées par des Acariens. Les réserves nutritives sont constituées par des exsudats provenant des feuilles et des substances cellulaires qui ont été endommagées par la gelée, les micromycètes parasites des plantes ou des animaux.

D'autre part, le mode de dispersion des levures appartenant au genre *Sporobolomyces* par ballitospores, peut expliquer sa fréquence. LAST (1955), GREGORY (1952), LAST et PRICE (1969) montrent le rôle de l'humidité qui favorise la quantité de *Sporobolomyces*. Selon notre étude, *Sporobolomyces roseus* est le plus fréquent. L'influence de l'hôte interviendrait au point de vue

Source : MNHN, Paris

nutritif, la cuticule de chaque feuille favorisant telle ou telle espèce de levures. Différents facteurs physiques (humidité, température, ultra-violets, salinité) constituent des paramètres importants pour la croissance ou la survie de ces microorganismes. Au cours de l'année, les espèces levuriformes varient considérablement. D'ailleurs RUINEN (1963) observe que la population de levures de la phyllosphère varie avec la saison et non avec la localisation.

La proportion de levures rouges par rapport aux levures totales est de 6 % en hiver et de 92 % à la fin de l'automne d'après DI MENNA (1959). HAYES (1982) étudiant les feuilles de *Rosa cv Picadilly* saines et infectées par *Diplocarpon rosae* arrive également à ces conclusions : abondance de la flore levuriforme à la fin de l'été, et effets bénéfiques de l'infection des feuilles. La flore levuriforme est composée entre autres par *Sporobolomyces roseus*, *Cryptococcus laurentii* et *Cryptococcus albidus*. Les variations saisonnières en ultra-violets peuvent expliquer la prédominance en été de levures à pigments caroténoïdes protecteurs mais elles n'expliquent pas leur forte diminution en hiver (DI MENNA, 1970). Pour LAST et DEIGHTON (1965) en plus de leur pouvoir protecteur, les pigments des levures permettent à ces microorganismes de mieux utiliser les sources énergétiques disponibles car ils sont aussi des récepteurs d'énergie.

La capacité de survie du genre *Sporobolomyces*, à de fortes concentrations salines, lui permet de coloniser des feuilles submergées par de l'eau saumâtre (PUGH et LINDSEY, 1975). De même, *Rhodotorula glutinis* tolère des concentrations salines avoisinant 16 % (NORKRANS, 1966).

DI MENNA (1959), LAST et PRICE (1969) rapportent que les feuilles seraient un milieu habité par certaines espèces, les plus fréquentes étant *Sporobolomyces roseus*, *Rhodotorula glutinis* et *Cryptococcus laurentii*. Ces trois espèces constituent le cortège isolé des feuilles étudiées.

La faible population levuriforme en avril, confirme des observations antérieures portant sur les eaux fluviales du bassin de Lorraine (HINZELIN, 1973-1977). La chute brutale des espèces en avril est significative. En effet à cette époque, la phyllosphère est peu abondante et c'est une période de repos pour la végétation. Peut-on lier cette constatation à la chute de la teneur en matière organique à la fin de l'hiver, avant le démarrage du nouveau cycle saisonnier ?

CONCLUSION

Nous pouvons conclure avec DI MENNA (1971) en disant que les effets physiques et chimiques du micro-environnement de l'hôte sont plus importants dans la détermination des espèces composant une population de levures que les facteurs biologiques. Il ne faut pas oublier que dans ces associations de microorganismes, la présence des uns peut produire pour les autres, soit une stimulation due à la libération de différentes substances probiotiques, soit un antagonisme protégeant l'hôte par la production de substances antibiotiques.

Source : MNHN, Paris

Ce travail confirme nos résultats (HINZELIN, 1977) antérieurs et conforte notre constatation d'une «population naturelle» composée de *Sporobolomyces (Sporobolomyces roseus, Sporobolomyces salmonicolor, Sporobolomyces odorus, Sporobolomyces holsaticus)*, de *Rhodotorula (Rhodotorula glutinis, Rhodotorula graminis)* et de *Cryptococcus (Cryptococcus laurentii, Cryptococcus albidus)*.

Cette «population naturelle» composée en majorité de levures à pigments caroténoïdes, est issue de la phyllosphère. Ces levures sont sous la dépendance étroite de la végétation. Nous savons que le cycle de développement du genre *Sporobolomyces* est lié au cycle végétatif des Phanérogames. Nous n'avons pas isolé de levures halophiles strictes. Les levures semblent s'adapter aisément aux concentrations de sel.

BIBLIOGRAPHIE

AINSWORTH G.C., SPARROW F.K. et SUSSMAN A.S., 1973 – The fungi - An advanced Treatise. A Taxonomic Review with Keys IV - A. Academic Press, New York.

BEECH F.W. et DAVENPORT R.R., 1971 – A survey of methods for the quantitative Examination of the yeast Flora of apple and grape leaves. *In* : Ecology of leaf surface micro-organisms. Academic Press, 640 p., p. 139-158.

CARMO–SOUSA L., 1969 – Distribution of yeasts in nature. *In* : The Yeasts. Édité par A.H. ROSE et J.S. HARRISON. Academic Press, London I: 79-105.

COSTELOW et coll., 1954 – *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et Kreger-van Rij. *In* : The Yeasts. Ed. J. LODDER, North Holland Pub. Cy.

DERX H.G., 1930 – Étude sur les Sporobolomycetes. *Ann. Mycol.* 28 (1-2) : 1-23.

DICKINSON C.H., 1971 – Cultural studies of leaf saprophytes. *In* : Ecology of leaf surfaces micro-organisms. Academic Press, 640 p., p. 129-138.

DI MENNA M.E., 1971 – The Mycoflora of leaves of pasture plants in New-Zealand. *In* : Ecology of leaf surfaces micro-organisms. Édité par T.F. PREECE et C.H. DICKINSON, Academic Press, London, pp. 159-174.

GREGORY P.H., 1952 - *Nature* London, 170 : 475-477.

HAYES A.J., 1982 – Phylloplane Micro-organisms of *Rosa* CV. *Picadilly* following infection by *Diplocarpon rosae*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 79 (2) : 311-319.

HEINEN W. and DE VRIES H., 1966 – Stages during the breakdown of plant cutin by soil micro-organisms. *Arch. Mikrobiol.* 54 : 331-338.

HINZELIN F., 1973 – Étude écologique des levures du genre *Rhodotorula* (Jorg.) Harrison dans les eaux de l'Ouest du Bassin Rhin-Meuse. D.E.A. d'Ecotoxicologie, 1973. Université de Metz - Faculté des Sciences.

HINZELIN F., 1977 – Contribution à l'étude écologique des levures en milieu aquatique. (Cas particulier d'un écosystème fluvial : la Moselle, et d'un écosystème salin continental : les marais salés de Lorraine). Thèse Sciences - Metz.

HINZELIN F. et LECTARD P., 1978 – Les levures dans les eaux de la Moselle. *Hydrobiologia* vol. 61, 3 : 209-224.

Source : MNHN, Paris

LAST F.T., 1955 — Seasonal incidence of *Sporobolomyces* on cereal leaves. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 38 : 221-239.

LAST F.T. et DEIGHTON F.C., 1965 — The non parasitic microflora on the surfaces of living leaves. *Trans. Br. mycol. Soc.* 48 : 83-99.

LAST F.T. and PRICE D., 1969 – Yeasts associated with living plants and their environs in the yeasts. vol. 1, Academic Press, 508 p., p. 183-218.

LODDER J., 1970 — The Yeasts - A taxonomic study. North Holland Pub. Cy.

MACNAMARA O.C., DICKINSON C.H., 1981 — Microbial degradation of plant cuticle. *In* : Microbial Ecology of the phylloplane. Edited by J.P. Blakeman. Academic Press, 502 p., p. 455-473.

NORKRANS B., 1966 — Studies on Marine Occuring yeasts : Growth Related to pH, NaCl concentration and Temperature. *Archiv. für Mikrobiologie* 54 : 374-392.

PUGH G.J.F., BUCKLEY N.G., 1971 — The leaf surface as a substrate for colonization by fungi. Ecology of leaf surface micro-organisms. Édité par T.F. PREECE et C.H. DICKINSON, Academic Press London, p. 431-455.

PUGH G.J.F., LINDSEY B.I., 1975 — Studies of *Sporobolomyces* in a maritime habitat. *Trans. Br. mycol. Soc.* 65 (2) : 201-209.

RUINEN J., 1956 — Occurence of *Beijerinckia* species in the phyllosphere. *Nature*, London, 177 : 220-221.

RUINEN J., 1963 — The phyllosphere. II - Yeasts from Phyllosphere of Tropical Foliage. *Antonie van Leeuwenhoek* 29 : 425-438.

RUINEN J., 1966 — The Phyllosphere. IV- Cuticle decomposition by micro-organisms in the phyllosphere. *Annls. Inst. Pasteur Paris*, suppl. 3 : 342-346.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

ÉTUDE COMPARÉE DE TROIS ESPECES DE *MARSSONINA* SALICICOLES

par I. VEGH* et J. VELASTEGUI**

RÉSUMÉ. — Une étude comparative de *Marssonina salicicola*, *kriegeriana* et *dispersa* a été réalisée. Cette dernière espèce se distingue nettement des précédentes. En ce qui concerne les deux premières espèces, nous avons effectué une étude comparée de la symptomatologie, de la morphologie des macroconidies, de l'aspect cultural, du mode de germination et de la vitesse de croissance en fonction de la température. Les résultats obtenus permettent de distinguer *M. salicicola* de *M. kriegeriana* et montrent aussi qu'il s'agit bien de deux espèces différentes.

SUMMARY. — A comparative study of *Marssonina salicicola*, *kriegeriana* and *dispersa* was conducted. *Marssonina dispersa* is markedly different from the other two. Concerning the first two species, we made a comparative study of the symptomatology, macroconidial morphology, cultural aspects, germination, and growth rate in relation to temperature. Our results allow us to distinguish *M. salicicola* from *M. kriegeriana* and show that they are two different species.

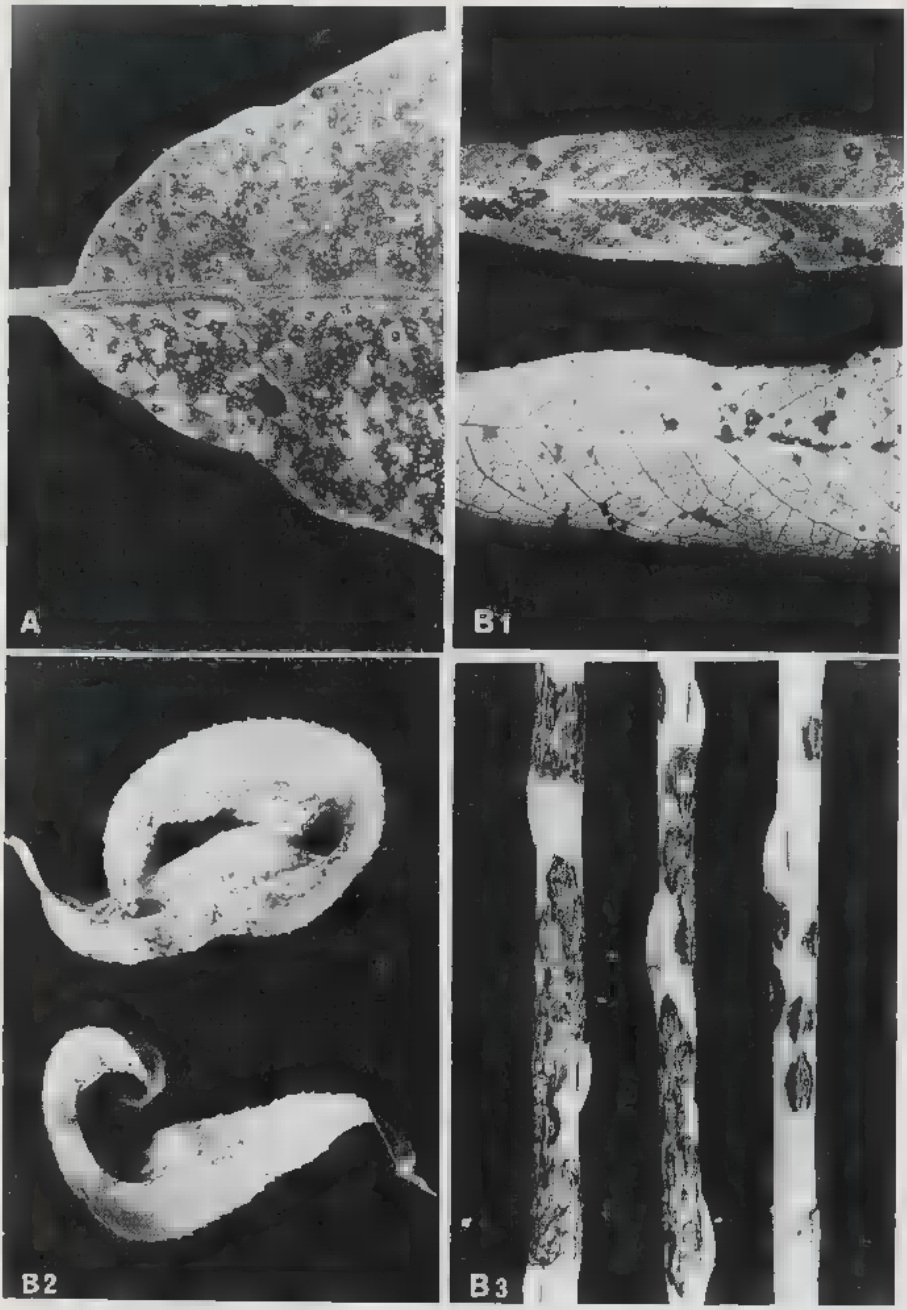
Depuis une quinzaine d'années, on observe en France sur le genre *Salix* trois espèces de *Marssonina* : *M. salicicola* (Bres.) Magn., *M. kriegeriana* (Bres.) Magn. et *M. dispersa* Nannf. Notons toutefois que *M. salicicola* est connu en France depuis bien plus longtemps. La première espèce se manifeste sur *Salix babylonica*, *fragilis*, *alba* et surtout *S. alba* 'Tristis'. La deuxième a été identifiée chez nous sur *S. alba* 'Tristis' et la troisième sur *S. cinerea*. Des trois espèces mentionnées, *M. salicicola* est la plus fréquente et la plus grave (VEGH, 1972). Elle est devenue un facteur limitant de la culture de *S. alba* 'Tristis'.

Le but de cette note est de donner quelques critères qui permettent de distinguer ces trois *Marssonina*.

* Station de Pathologie végétale. I.N.R.A., Route de St-Cyr, 78000 Versailles.

** Adresse actuelle : Universidad Tecnica de Ambato, Casilla 596, Ambato (Ecuador).

Source : MNHN, Paris



Pl. 1. — A : Taches de *Marssonina dispersa* sur *Salix cinerea*. B : Symptômes de *Marssonina salicicola* sur *Salix alba* 'Tristis' : 1: lésions sur feuilles, 2 : attaque déformante sur jeunes feuilles, 3: dégâts caractéristiques sur jeunes rameaux.

Source : MNHN, Paris

MARSONINA DISPERSA

Cette espèce diffère assez nettement des précédentes par plusieurs caractères. En effet, elle ne se développe que sur les feuilles sur lesquelles elle provoque l'apparition de petites taches punctiformes (Pl. I. A). Ses macroconidies prélevées sur feuilles (fig. 1), souvent courbées, mesurent 19-24 x 5-10 µm. Elles sont donc plus longues et plus larges que celles de *M. salicicola* et de *M. kriegeriana* (voir plus haut).

De plus, *in vitro* (sur les milieux usuels gélosés), sa croissance, très réduite, est environ cinq fois moindre que celle de *M. salicicola* (Pl. II. A).

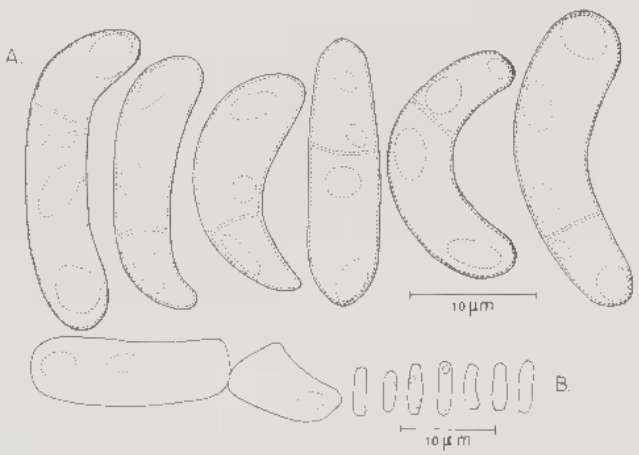


Fig. 1 — Conidies de *Marssonina dispersa*. A : Macroconidies. B : Microconidies.

MARSSONINA SALICICOLA ET *KRIEGERIANA*

Si l'on se base uniquement sur les symptômes et la morphologie des macroconidies de ces deux espèces, on peut les confondre. C'est la raison pour laquelle

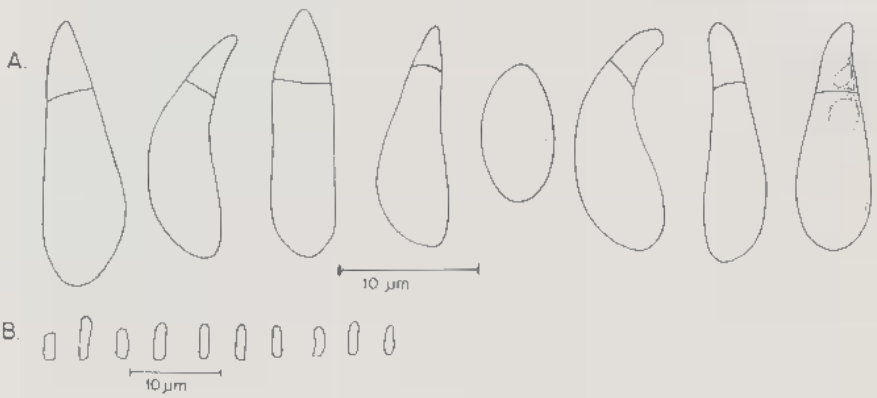


Fig. 2 — Conidies de *Marssonina salicicola*. A : Macroconidies. B : Microconidies.

Source : MNHN, Paris

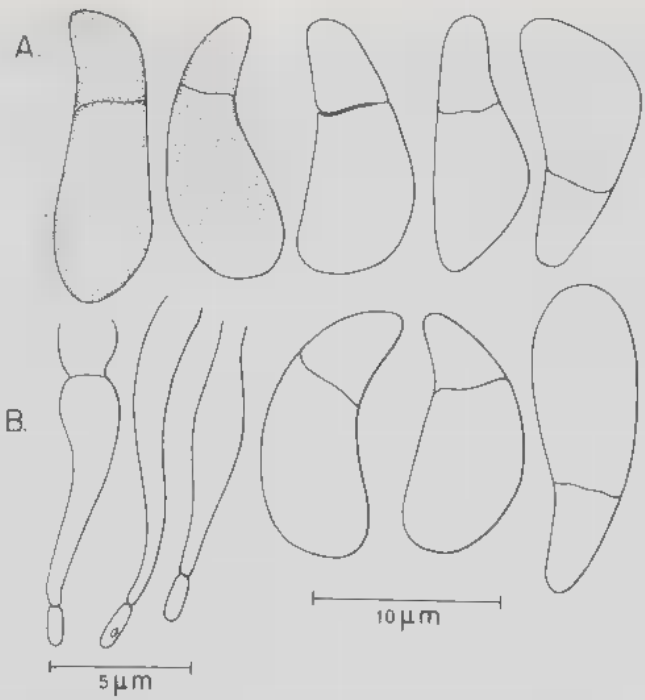


Fig. 3 – Conidies de *Marssonina kriegeriana*. A : Macroconidies. B : Microconidies.

il nous a paru utile de rechercher d'autres caractères qui permettent de les déterminer d'une façon sûre. Les résultats de cette étude comparée sont consignés dans le tableau I.

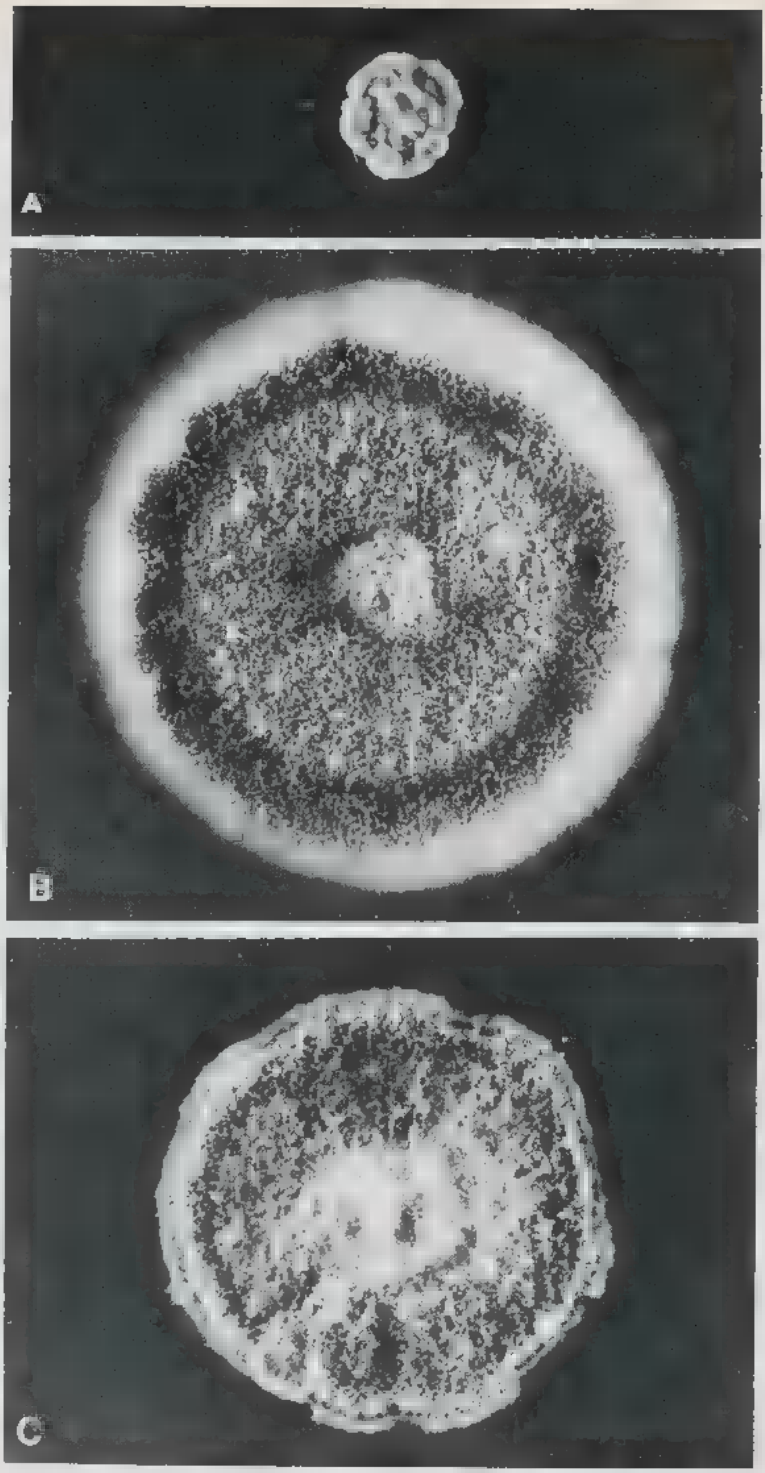
Tableau I
Étude comparée de *Marssonina salicicola* et *kriegeriana*

Critères à étudier	*Marssonina salicicola*	*Marssonina kriegeriana*
- Forme parfaite	*Drepanopeziza sphaeroides* (Fr.) Nannf.	*Drepanopeziza triandrae* Rimpau
- Organes végétaux attaqués	inflorescences, feuilles, rameaux (Pl. I.B)	essentiellement feuilles (fig. 4)
- Symptômes sur feuilles	petites taches ± arrondies de couleur brun rouge, dont le centre devient grisâtre; réduction et déformation des feuilles (Pl. I.B1-2)	petites taches ± arrondies à contour régulier ou fibrilleux; centre clair, bord brun ou marron à rosâtre; pas de réduction ni de déformation des feuilles (fig. 4)

Source : MNHN, Paris

Critères à étudier	*Marssonina salicicola*	*Marssonina kriegeriana*
- Manifestation des dégâts dans la Région Parisienne	dès l'apparition des feuilles (février-mars) et durant toute la période de végétation : principalement fin de printemps et début d'été	dès la fin de printemps jusqu'à la chute des feuilles: principalement fin d'été et début d'automne
- Morphologie des «macroconidies d'été»	piriformes ou subovoïdes plus de 50 p. 100 des macroconidies faiblement courbées (fig. 2)	idem, mais presque toutes les macroconidies sont faiblement courbées (fig. 3)
- Biométrie des «macroconidies d'été»		
sur feuilles	11,0-17,0 x 4,0-5,5 µm (m. : 14,5 x 5,0 µm)	11,0-17,4 x 3,7-5,4 µm (m. : 13,5 x 4,4 µm)
sur milieu nutritif gélosé (P.D.A.)	15,2-35,5 x 5,1-10,1 µm (m. : 23,6 x 6,5 µm)	11,8-22,0 x 3,4-8,5 µm (m. : 16,1 x 5,7 µm)
- Aspect cultural sur P.D.A.	colonie de couleur grise ou noirâtre à face supérieure, entourée d'une marge blanche (Pl. II.B)	aspect plus ou moins semblable (Pl. II.C)
- Croissance mycélienne en fonction de la température	3-29°C, avec optimum vers 23°C	5-29°C, avec optimum vers 22°C; d'une façon générale la croissance est plus faible (Pl. II.C)
- Germination des macroconidies sur eau gélosée par «conidies secondaires»	fréquentes (fig. 5)	absentes
- Germination des macroconidies en fonction de la température sur eau gélosée	optimum : 22°C	optimum : 20°C
- Germination des macroconidies en présence d'eau liquide	très faible (1-10 p. cent)	assez importante (50-60 p. cent)
- Ramification des filaments germinatifs sur eau gélosée après 40 h d'incubation	la majorité sont ramifiés (50-80 p. cent)	la majorité sont simples (50-80 p. cent)
- Résistance des macroconidies à la chaleur (à 35°C durant 24 h) et après remises à 22°C	% de germination : 0	% de germination : 70
- Sensibilité des macroconidies aux U.V.	sensibles	plus résistantes

Source : MNHN, Paris



Pl. II. — A : Aspect cultural de *Marssonina dispersa* sur P.D.A. après 40 jours d'incubation à 23°C. B : Aspect cultural de *Marssonina salicicola* sur P.D.A. après 40 jours d'incubation à 23°C. C : Aspect cultural de *Marssonina kriegeriana* sur P.D.A. après 40 jours d'incubation à 22°C.

Source : MNHN, Paris

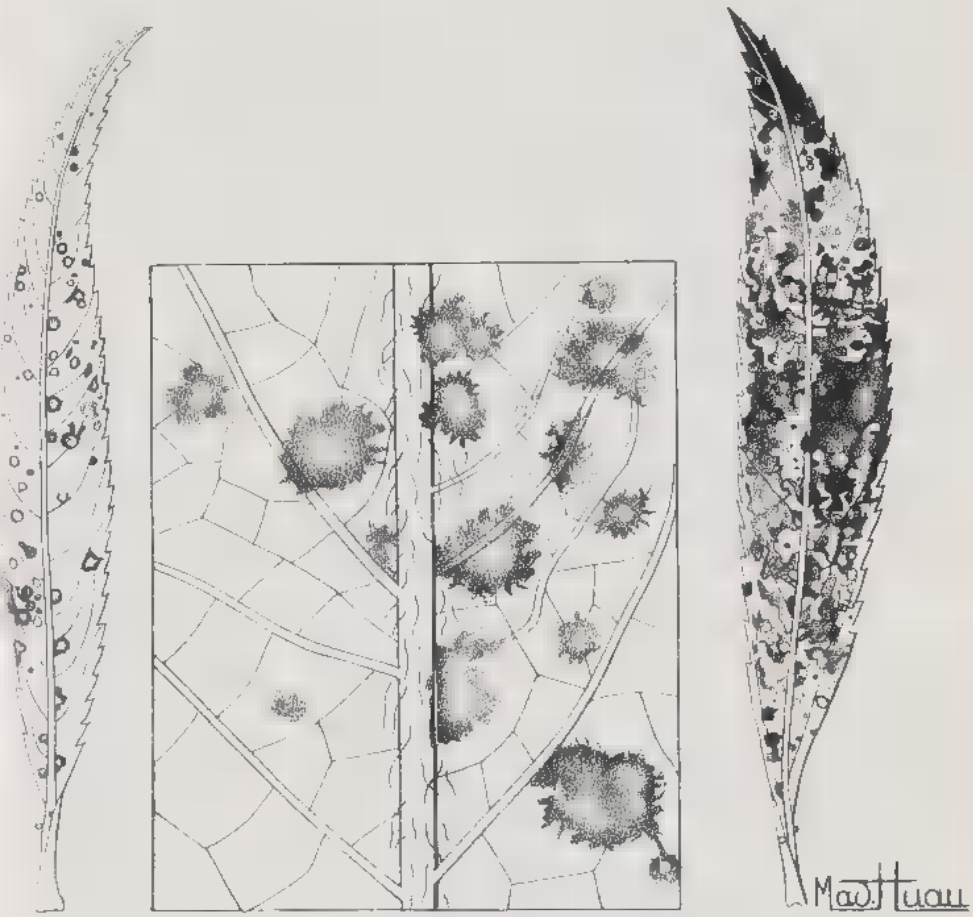


Fig. 4. — Taches provoquées par *Marssonina kriegeriana* sur feuilles de *Salix alba* 'Tristis'.



Fig. 5. — «Conidies secondaires» de *Marssonina salicicola* formées sur eau gélosée.

Source : MNHN, Paris

Notons encore qu'en Égypte, NATTRASS (1930) signale le *M. kriegeriana* sur les inflorescences et les rameaux. Quant à nous, nous n'avons jamais observé ce parasite sur ces organes. En revanche, lorsque nous avons effectué des inoculations sur pousses de *S. alba* 'Tristis' avec ces deux champignons, nous avons obtenu des symptômes similaires. Il est donc possible que le *M. kriegeriana* attaque en France aussi les rameaux et que ces dégâts soient attribués à *M. salicicola*.

BIBLIOGRAPHIE

NATTRASS R.M., 1930 – A note on two *Marssonina* diseases on willows. *Min. of Agric., Egypt (Plant Protect. Sect.)* Bull. nº 99, 1-19.

VEGH I., 1972 – Contribution à l'étude biologique du *Marssonina salicicola* (Bres.) Magn., Thèse, Faculté des Sciences de l'Université de Reims.

Source : MNHN, Paris

ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DES ASQUES ET DES ASCOSPORES DE TRUFFES DU GENRE *TUBER*

II. – LES ASCOSPORES

par M.C. JANEX-FAVRE et A. PARGUEY-LEDUC*

RÉSUMÉ. – La paroi des ascospores a été comparée chez diverses Truffes du genre *Tuber* (*T. aestivum, T. bituminatum, T. dryophilum, T. excavatum, T. melanosporum, T. mesentericum, T. rufum, T. uncinatum*). Les observations ultrastructurales des ascospores adultes font apparaître une grande homogénéité de structure : leur paroi présente alors seulement deux couches superposées : l'épispore, interne, claire et régulière, et la couche ornementale externe, sombre, d'origine composite.

Par contre, dans l'évolution de la paroi interviennent les diverses couches classiquement reconnues dans les parois sporales, à savoir, de l'intérieur vers l'extérieur : l'épispore, l'exospore, la périspore et l'ectospore. Les épines caractéristiques du g. *Tuber* dérivent soit de l'exospore, soit de la périspore.

SUMMARY. – Comparison of ascospore walls in several Truffles (*Tuber aestivum, T. bituminatum, T. dryophilum, T. excavatum, T. melanosporum, T. mesentericum, T. rufum, T. uncinatum*). The final structure of ascospore walls is very homogeneous, with the superposition of only two layers : an inner regular epispore and an outer composite ornamental layer. The different usual layers are yet differentiated during the spore wall formation, from the interior to the exterior : the epispore, the exospore, the perispore and the ectospore. The spines characteristic of *Tuber* species derive either from the exospore or from the perispore.

Dans une précédente publication (PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1981), nous avons décrit l'organisation des asques chez diverses espèces de Truffes du g. *Tuber*. Nous présentons maintenant nos observations relatives aux ascospores de ces mêmes Truffes (*T. aestivum, T. bituminatum, T. dryophilum, T. excavatum, T. melanosporum, T. mesentericum, T. rufum, T. uncinatum*), depuis le stade de la formation du sac pro-sporal qui délimite initialement chacune des ascospores jusqu'au stade adulte.

* Laboratoire de Cryptogamie - Université Pierre et Marie Curie - 9, Quai Saint-Bernard, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

Ces nouvelles observations complètent celles, déjà publiées, sur les ascospores du *Tuber aestivum* (PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1977 a), du *T. rufum* (JANEX-FAVRE, 1977) et du *T. mesentericum* (JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC, 1980).

1. — DÉLIMITATION DES ASCOSPORES

Rappelons que dans le jeune asque, le noyau diploïde, après avoir migré dans la région sommitale, s'y divise pour donner les futurs noyaux sporaux; ceux-ci se localisent tout près du plasmalemme. Sur le trajet de ce dernier se différencient alors de nombreux lomasomes (pl. I, fig. 1).

A partir de certains lomasomes (pl. I, fig. 2) prennent naissance des diverticules dirigés vers l'intérieur de l'asque. Ils sont formés par un feuillet simple tripartite. Au début de sa formation, ce feuillet est plissoté; ensuite, il se détend progressivement, en s'allongeant dans la zone péri-nucléaire (pl. I, fig. 3), puis il entoure l'un des futurs noyaux sporaux.

Il se forme ainsi progressivement, autour de ce noyau, un sac (= sac pro-sporal) qui tend à se fermer pour délimiter une ascospore; la zone de fermeture se localise toujours du côté interne, au contact de la région du cytoplasme contenant des vacuoles à précipités (pl. II, fig. 1 puis 2 et pl. III, fig. 1).

Comme le feuillet dont il est issu, le sac pro-sporal est initialement simple et il le demeure lorsque, complètement fermé, il devient la paroi «primordiale» de la jeune ascospore (pl. III, fig. 2).

2. — PAROI PRIMAIRE

Très rapidement la paroi primordiale fait place à une paroi primaire formée de deux feuillets tripartites, séparés par un espace clair (pl. III, fig. 3). Pour cela, cette paroi primordiale unique se dédouble. Son dédoublement débute en plusieurs points espacés, où se trouvent ainsi délimitées, en coupe, des sortes de boutonnières. Celles-ci confluent peu à peu entre elles, de sorte que les deux feuillets deviennent parfaitement distincts. Le feuillet interne constitue alors le plasmalemme sporal.

Ensuite les deux feuillets s'écartent progressivement l'un de l'autre, chacun d'eux est sinueux mais leurs tracés ne sont pas strictement parallèles (pl. IV, fig. 1 et 2). A ce stade les ascospores quittent la périphérie de l'asque et se regroupent en son centre.

Par la suite la paroi primaire s'épaissit, son feuillet externe devient très irrégulier, dessinant des pointes et de courts piliers radiaires saillants dans l'épiplasme (pl. V, fig. 1 et 2). De place en place des éléments du réseau endoplasmique de l'épiplasme s'appliquent contre ce feuillet, qui apparaît ainsi localement double.

3. — FORMATION DE PILIERS RADIAIRES SUR LA JEUNE ASCOSPORE

Les pointes et les courts piliers qui hérissent la paroi primaire s'allongent et forment des piliers minces, disposés radialement tout autour de la spore.

Source : MNHN, Paris

Chez le *T. dryophilum* (pl. VI, fig. 1) ces piliers sont espacés, très fins mais dilatés en ampoules de place en place, sinueux et parfois ramifiés. Entre deux piliers successifs la paroi n'est pas denticulée.

Chez le *T. melanosporum* (pl. VI, fig. 2) les piliers radiaires sont beaucoup plus nombreux et larges, parfois confluents. A leur extrémité demeurent visibles des restes du réseau endoplasmique. La paroi est irrégulièrement ondulée entre deux piliers successifs.

La structure des piliers radiaires des ascospores du *T. aestivum* est voisine (PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1977 a) mais leurs dilatations présentent une grande régularité : localisés à l'extrémité des piliers, d'abord sous forme d'ampoules, elles s'aplatissent ensuite progressivement et confluent entre elles.

Chez le *T. rufum* (JANEX-FAVRE, 1977) et le *T. mesentericum* (JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC, 1980) les piliers radiaires demeurent courts et trapus; ils s'épaississent irrégulièrement à partir de leur base.

4. – FORMATION ET ÉVOLUTION DE LA PARTIE SECONDAIRE DE LA PAROI

a) Formation de la périspore

Les bases confluentes des piliers radiaires forment une couche continue qui devient la périspore (pl. VII, fig. 1 et 2). Celle-ci s'épaissit progressivement, en intégrant les piliers radiaires (*T. rufum*, *T. mesentericum*) ou en les repoussant dans l'épiplasme (*T. aestivum*, *T. melanosporum*).

Lorsqu'elle est parfaitement développée, la périspore a une grande épaisseur : tantôt elle est transparente aux électrons (pl. VIII, fig. 1), tantôt elle contient des traînées de fines granulations ou de courtes fibrilles irrégulières, opaques aux électrons (pl. VII et pl. VIII, fig. 2), dont la densité augmente progressivement (pl. IX, fig. 1). Vers l'extérieur, la périspore est limitée par l'ectospore résultant de la fusion d'éléments du réseau endoplasmique avec le feuillet externe de la paroi primaire. Les éléments du réseau sont toutefois encore visibles sur les figures de la planche VIII.

b) Formation de l'épispore et de l'exospore

A l'extérieur du plasmalemme se différencie une épispore, régulière et claire ou faiblement opaque aux électrons (pl. VI, fig. 2 et pl. VIII, fig. 1). A sa surface s'observent de place en place des masses irrégulières très denses aux électrons qui, en devenant coalescentes, forment une exospore pelucheuse (pl. VII, fig. 2 et pl. VIII, fig. 2).

c) Formation des épines ornementales

Les épines, qui caractérisent les ascospores dans l'ensemble du g. *Tuber*, n'ont pas la même origine chez toutes les espèces. Deux cas ont été reconnus :

Source : MNHN, Paris

α) les épines sont formées par la périspore.

Dans ce cas, celle-ci se rétracte brutalement, sauf en certains points où elle conserve son épaisseur; ces points constituent alors les sommets d'épines disposées sur toute la surface sporale. Ce cas est celui des *T. dryophilum*, *T. mesentericum*, *T. rufum* et *T. uncinatum*.

Chez ces espèces, le contenu des épines se présente sous la forme soit de filaments entremêlés (pl. X, fig. 2 et pl. XI), soit de granules denses (pl. XII, fig. 1), les uns et les autres disposés sans orientation particulière. Les épines sont recouvertes par l'ectospore.

β) les épines sont des expansions de l'exospore.

Chez le *T. aestivum* et le *T. melanosporum* leur formation débute alors que la périspore est encore fortement dilatée (pl. IX, fig. 1); elles s'ébauchent alors sous forme de fibres disposées perpendiculairement à l'exospore. Ces fibres s'allongent, convergent vers l'extérieur, puis se disposent en faisceaux coniques (pl. IX, fig. 2 et pl. X, fig. 1). L'ectospore vient se mouler contre chaque faisceau conique qui constitue alors une épine (pl. X, fig. 2).

5. — STADE FINAL

Au stade final, quelle qu'ait été l'évolution antérieure, la paroi des ascospores des Truffes présente, en coupe, une structure stratifiée, sensiblement identique chez les diverses espèces; celle-ci comprend :

a) une couche interne, appliquée contre le plasmalemme, d'une épaisseur remarquablement régulière, transparente ou faiblement opaque aux électrons (pl. XIII et pl. XIV). Cette couche est constituée par l'épispore, qui s'est nettement épaissie;

b) une couche externe ornementale, constituée par les épines dont les bases sont réunies entre elles en une nappe continue, d'épaisseur variable selon les espèces. Cette couche externe est constituée par l'exospore et les épines dont les composants internes deviennent progressivement indistincts (pl. XII, fig. 2; pl. XIII et pl. XIV).

A la surface des épines, l'ectospore demeure très longtemps visible (pl. XII, fig. 2 et pl. XIV, fig. 1). Dans le cas du *T. aestivum* certains éléments de l'ectospore ne s'appliquent pas directement contre les épines mais demeurent tendus entre leurs extrémités, en formant un voile (pl. XIII).

On sait que la détermination des espèces du g. *Tuber* est basée, de façon classique, sur le type d'ornementation sporale, qui est échinulé ou alvéolé (cf. notamment MALENÇON, 1938). Si cette distinction est parfaitement reconnaissable sur des spores observées «in toto», en microscopie photonique, elle n'apparaît par contre pas sur les coupes ultrafines.

Source : MNHN, Paris

CONCLUSION

Structure et évolution comparée de la paroi des ascospores chez diverses Truffes

Rappelons que la délimitation des ascospores se fait individuellement pour chacune d'elles, à partir d'un sac pro-sporal constitué, autour de chaque noyau sporal, par un unique feuillet tripartite qui, une fois refermé sur lui-même, devient la paroi primordiale de la jeune ascospore (JANEX-FAVRE et PARGUEY-LEDUC, 1976; PARGUEY-LEDUC et JANEX-FAVRE, 1977 b et 1981).

Ce mode d'ascosporogénèse rappelle celui décrit chez les Hémi-Ascomycètes, où chaque ascospore est, comme chez les Truffes, délimitée individuellement dans l'asque.

Il est par contre bien différent de celui existant chez les Eu-Ascomycètes, qui fait intervenir une vésicule ascale.

La paroi primordiale des ascospores des Truffes se transforme ensuite en une paroi primaire formée de deux feuillets tripartites, qui s'écartent progressivement l'un de l'autre. Le feuillet interne devient le plasmalemme sporal.

L'évolution ultérieure de la paroi ascosporale aboutit à une structure très semblable chez les différentes espèces, mais elle se réalise selon des modalités variées, qui sont résumées dans le tableau synthétique ci-après.

espèces / paroi ascosporale	1	2	3	4	5	6
application du réseau endoplasmique contre la paroi primaire épaissie	+			+	+	+
formation de piliers radiaires	+	+	+	+	+	+
gonflement de la périspore accompagné de :						
- intégration des piliers				+	+	
- rejet des piliers dans l'épiplasme	+		+			
épispore régulière	+	+	+	+	+	+
exospore d'abord pelucheuse	+		+	+	+	+
épines ornementales dérivant :						
- de l'exospore	+		+			
- de la périspore		+		+	+	+
présence d'un voile fugace reliant les extrémités des épines. Il est : - d'origine ectosporale	+					
- dérivé du réseau endoplasmique					+	

1 : *Tuber aestivum*; 2 : *T. dryophilum*; 3 : *T. melanosporum*; 4 : *T. mesentericum*; 5 : *T. rufum*; 6 : *T. uncinatum*.

Source : MNHN, Paris

L'interprétation de la structure de la paroi ascosporale des Truffes n'a pas été aisée : nous nous sommes en effet heurtées à des difficultés dans la dénomination des diverses couches, en particulier de la plus interne. On peut interpréter cette dernière soit comme une endospore, du fait qu'elle est appliquée contre le plasmalemme, soit comme une épispore, du fait qu'elle est directement sous-jacente à l'exospore.

En fait, ces deux couches peuvent avoir une structure semblable, comme nous l'avons observé chez le *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. et de Not. (A. PARGUEY-LEDUC et al., 1982); en effet, chez cette espèce, elles sont superposées à l'extérieur du plasmalemme et ne peuvent être réellement distinguées qu'au niveau des septums où elles se séparent : l'endospore s'incurve alors et entoure individuellement chaque cellule. Ainsi, chez cette espèce, les ascospores étant pluricellulaires, l'identification de l'endospore est facile; par contre, chez les Truffes à ascospores unicellulaires, elle est plus délicate.

C'est pourquoi il nous a semblé plus opportun, dans nos publications sur les Truffes, de nommer épispore la couche interne de la paroi et ce, par comparaison avec ce que PERREAU (1967, 1976) a décrit chez les Basidiomycètes. Selon cet auteur, en effet, dans les basidiospores, l'épispore est toujours lisse, claire et régulière, et de plus elle est associée à une exospore ornementée : ces caractères se trouvent également réunis chez les Truffes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement R. Cailleux, G. Chevalier, B. Darchen, H. Frochot, F. Magne, G. Malençon, C. Montant et L. Riousset de nous avoir procuré et déterminé les Truffes utilisées pour ce travail, et nous avons plaisir à rappeler la précieuse collaboration technique de C. Bidoux, C. Fournigault et N. Jampsin.

BIBLIOGRAPHIE

BERTA G. and FUSCONI A., 1983 – Ascosporogenesis in *Tuber magnatum*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 80 : 201-207*.

JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1976 – La formation des ascospores chez deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. (Tubéracées). *C. R. Acad. Sci. Paris* 283 : 1173-1175.

JANEX-FAVRE M.C., 1977 – La paroi des ascospores du *Tuber rufum* Pico. *Bull. Soc. Mycol. France* 93 : 407-424.

JANEX-FAVRE M.C. et PARGUEY-LEDUC A., 1980 – Formation et évolution des ascospores du *Tuber mesentericum* Vitt. *Bull. Soc. Mycol. France* 96 : 225-237.

MALENÇON G., 1938 – Les Truffes européennes - Historique - Morphogénie - Organographie - Classification - Culture. *Rev. de Mycol.* 3 (5).

* Nous n'avons malheureusement pu tenir compte de cette publication parue seulement après la mise sous presse de notre article.

Source : MNHN, Paris

PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 a — L'ornementation des ascospores chez le *Tuber aestivum* Vitt. Travaux dédiés à G. VIENNOT-BOURGIN, *Soc. Fr. Phytopathol.* : 307-323.

PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1977 b — L'organisation des asques de deux Truffes : *Tuber rufum* Pico et *Tuber aestivum* Vitt. *Rev. de Mycol.* 41 : 1-32.

PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1981 — Étude ultrastructurale des asques et des ascospores de Truffes du g. *Tuber*. I. Les asques. *Cryptogamie, Mycologie* 2 : 37-53.

PARGUEY-LEDUC A., JANEX-FAVRE M.C., ANDRIEU S., LACOSTE L. et TRAORE F., 1982 — Les périthèces et les asques du *Leptosphaeria (?) senegalensis* Segretain, Baylet, Darasse et Camain. *Ann. de Parasitologie* 57 (2) : 179-195.

PERREAU-BERTRAND J., 1967 — Recherches sur la différenciation et la structure de la paroi sporale chez les Homobasidiomycètes à spores ornées. *Ann. Sci. Nat. Bot. et Biol. vég.*, 12ème ser., 8 : 639-745.

PERREAU J., 1976 — Développement, morphologie et structure de la basidiospore (chez les Homobasidiomycètes). *Information scientifique* 31 : 55-75.

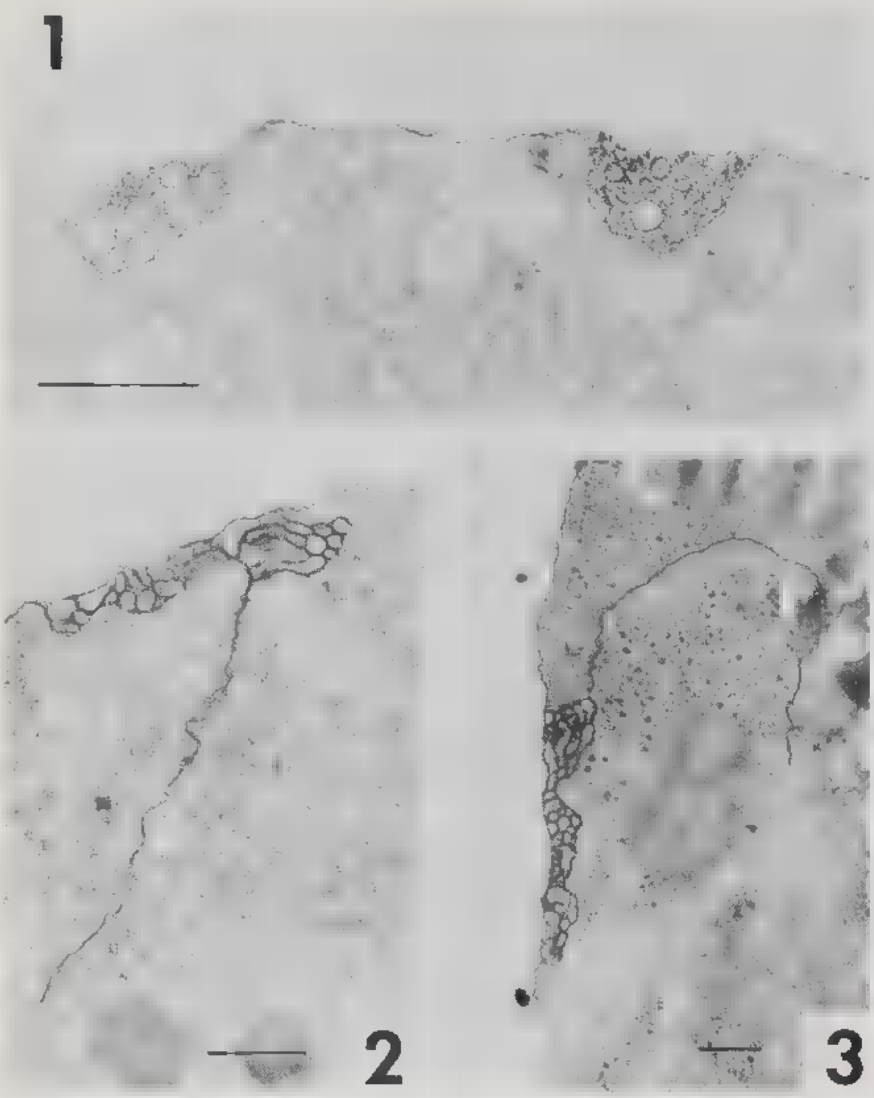
o

o o

Pour toute cette étude, nous avons utilisé la double fixation par le glutaraldéhyde puis le tétroxyde d'osmium. Les coupes ont été contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, ou traitées par la technique de Thiéry (Planche I).

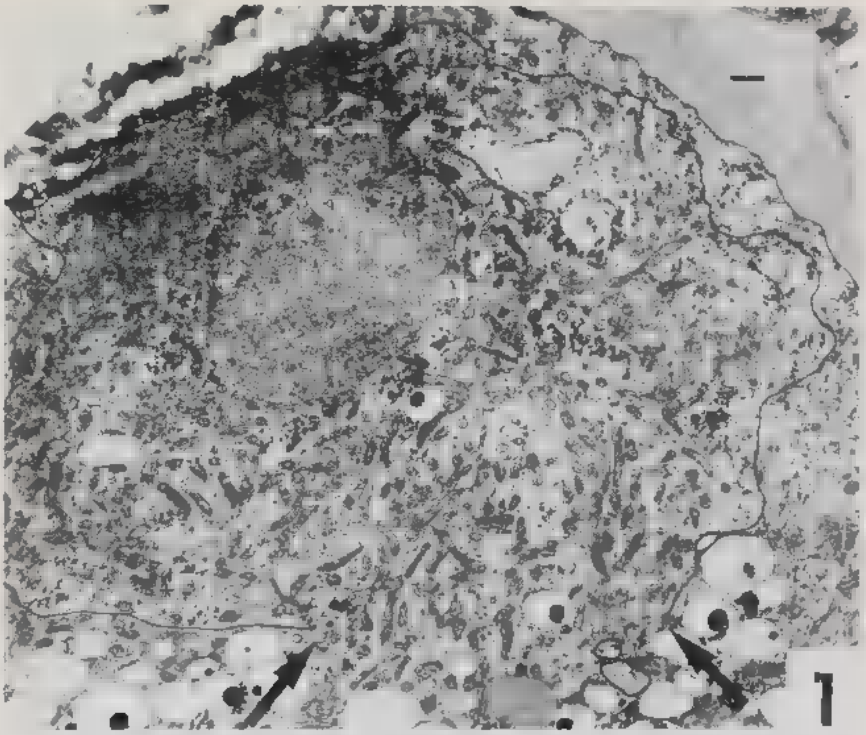
Échelle des planches : 0,5 µm, sauf pl. III, fig. 3 : 0,1 µm.

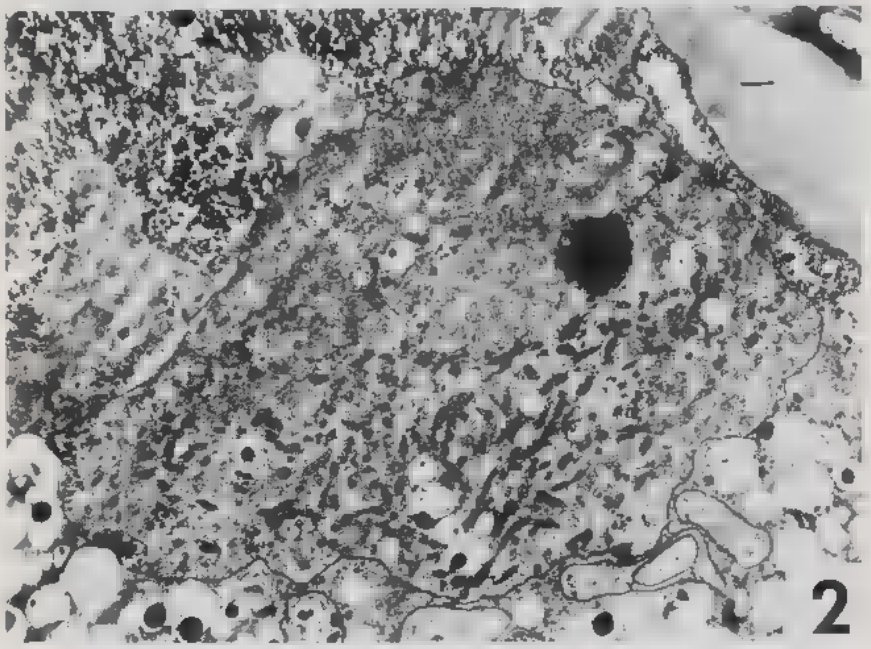
Source : MNHN, Paris



Pl. I Formation du sac pro-sporal à partir de plasmalemmasomes chez le *T. destruum*.

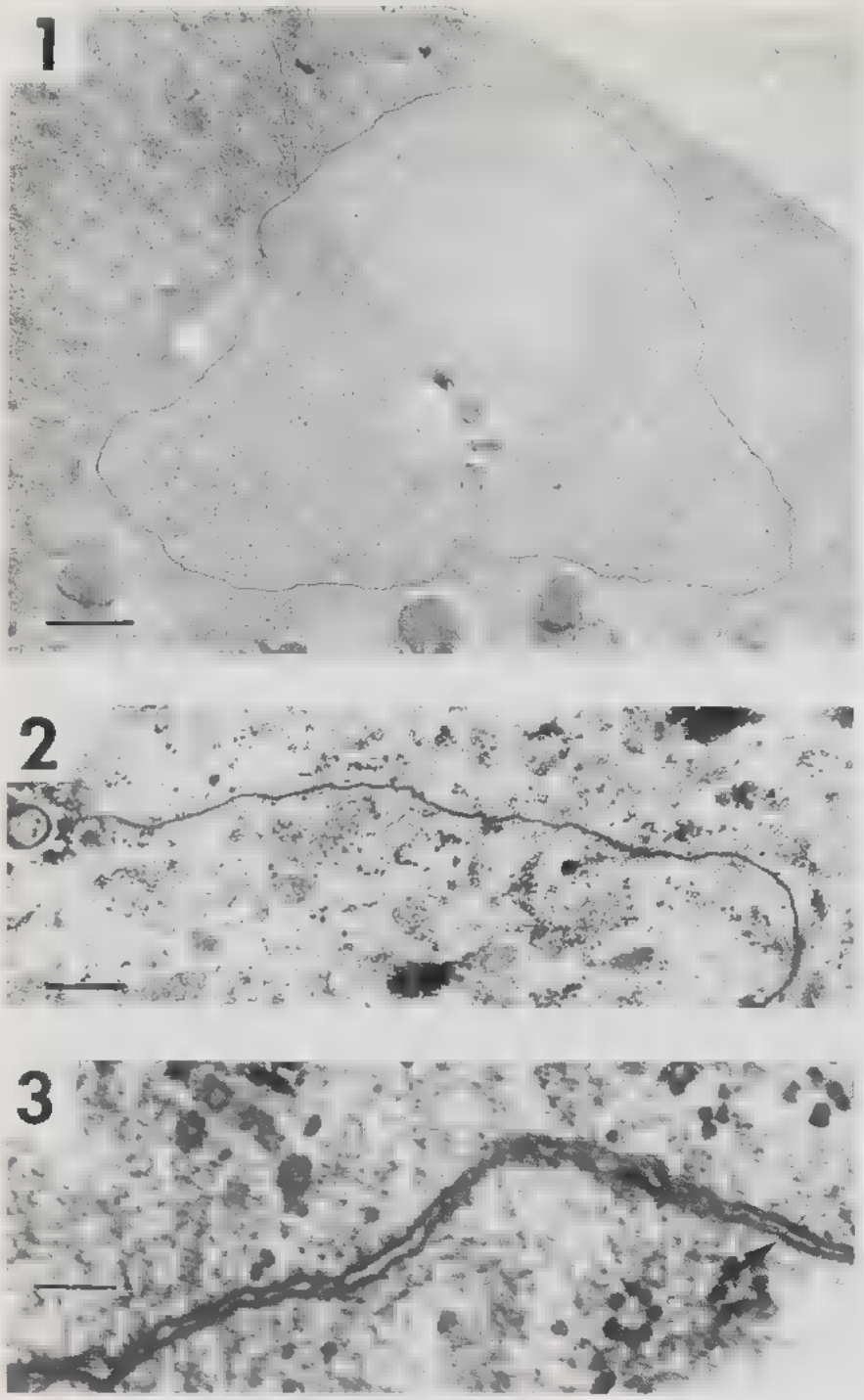
Source : MNHN, Paris





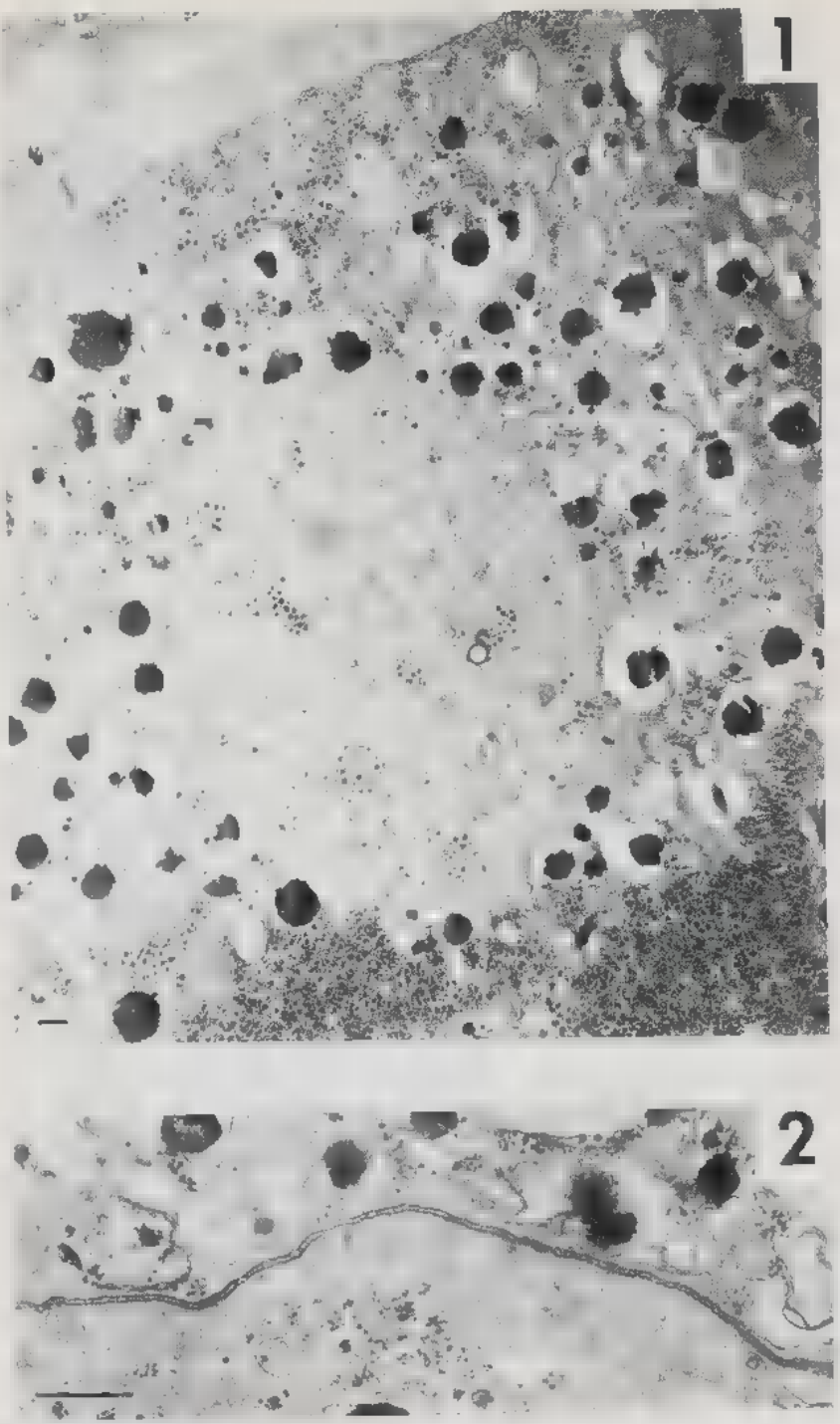
Pl. II – Délimitation de l'ascospore chez le *T. mesentericum*. Fig. 1 : le sac pro-sporal n'est pas encore fermé (flèches). Fig. 2 : le sac, complètement fermé, devient la paroi primordiale simple de l'ascospore.

Source : MNHN, Paris



Pl. III – Paroi primordiale et paroi primaire. Fig. 1 : paroi primordiale simple chez le *T. aestivum*. Fig. 2 : détail de la paroi primordiale simple chez le *T. mesentericum*. Fig. 3 : détail de la paroi primaire, à deux feuillets tripartites, chez le *T. mesentericum*.

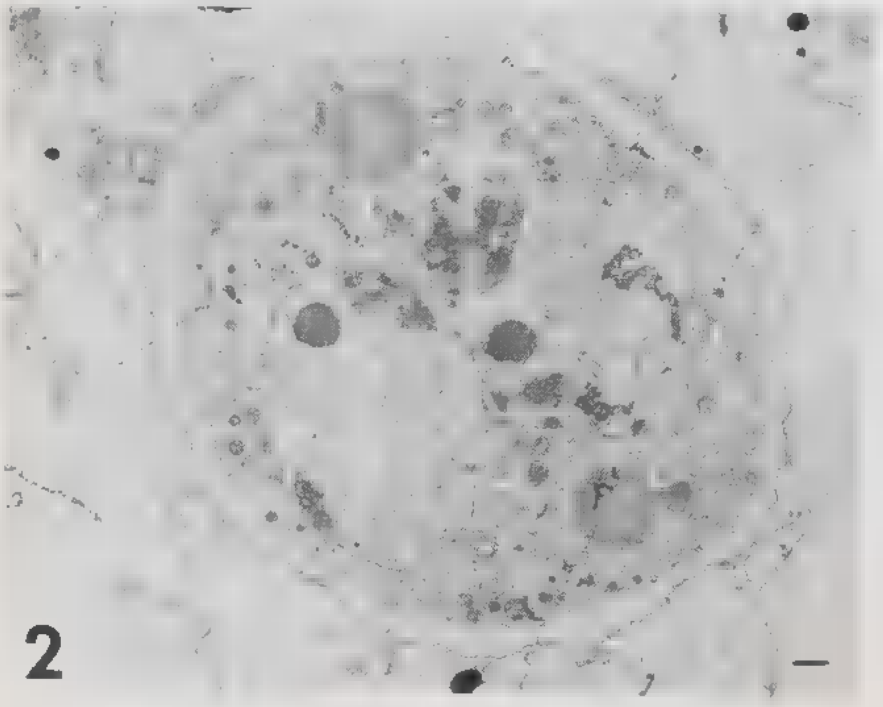
Source : MNHN, Paris



Pl. IV – Début d'écartement des deux feuillets de la paroi primaire chez le *T. rufum*. Fig. 1 : ensemble de l'ascospore. Fig. 2 : détail de la paroi primaire.

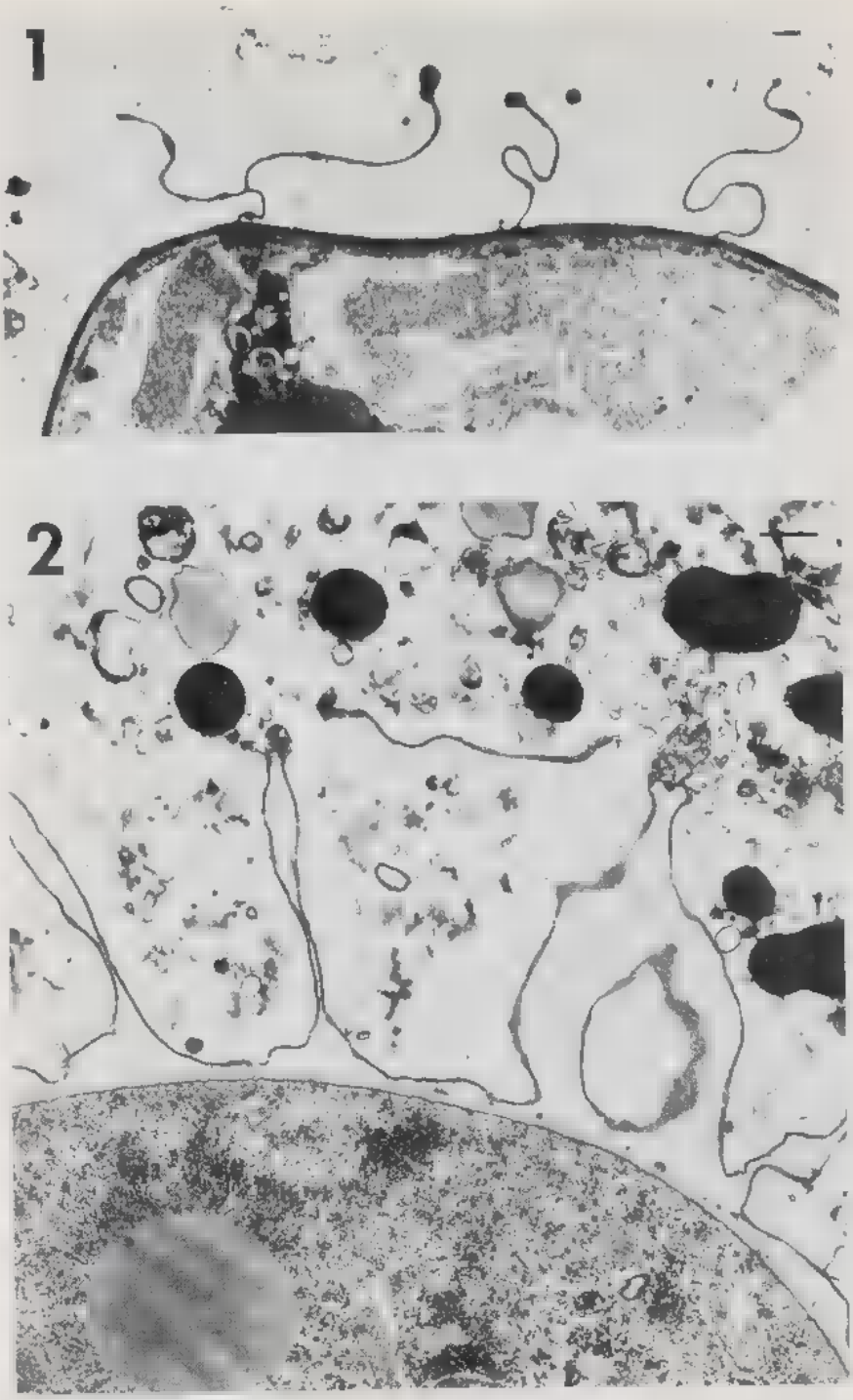
Source : MNHN, Paris





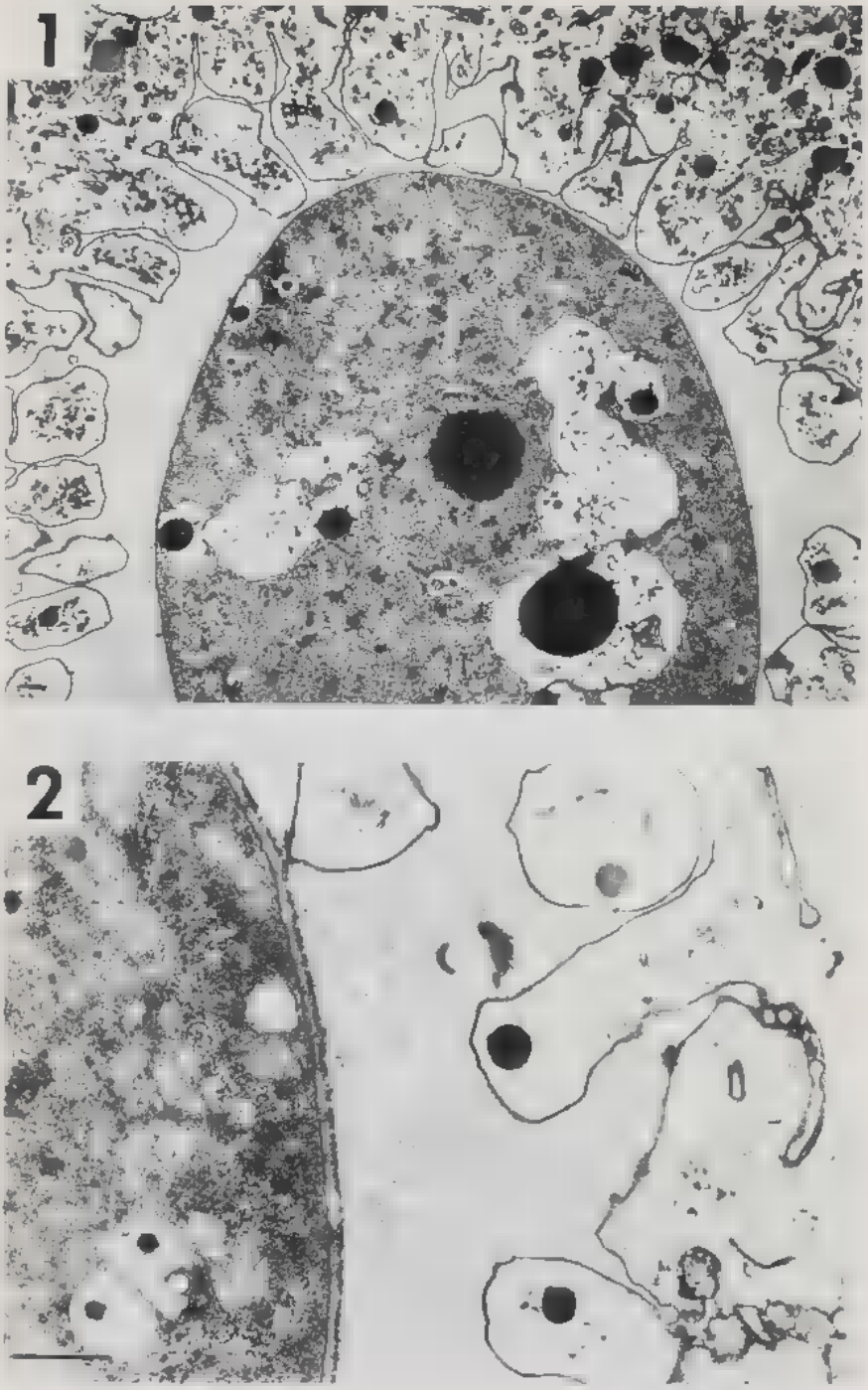
Pl. V — Paroi primaire épaissie : son feuillet externe forme des pointes, il est localement doublé par des éléments du réseau endoplasmique. Fig. 1 : *T. rufum*. Fig. 2 : *T. uncinatum*.

Source : MNHN, Paris



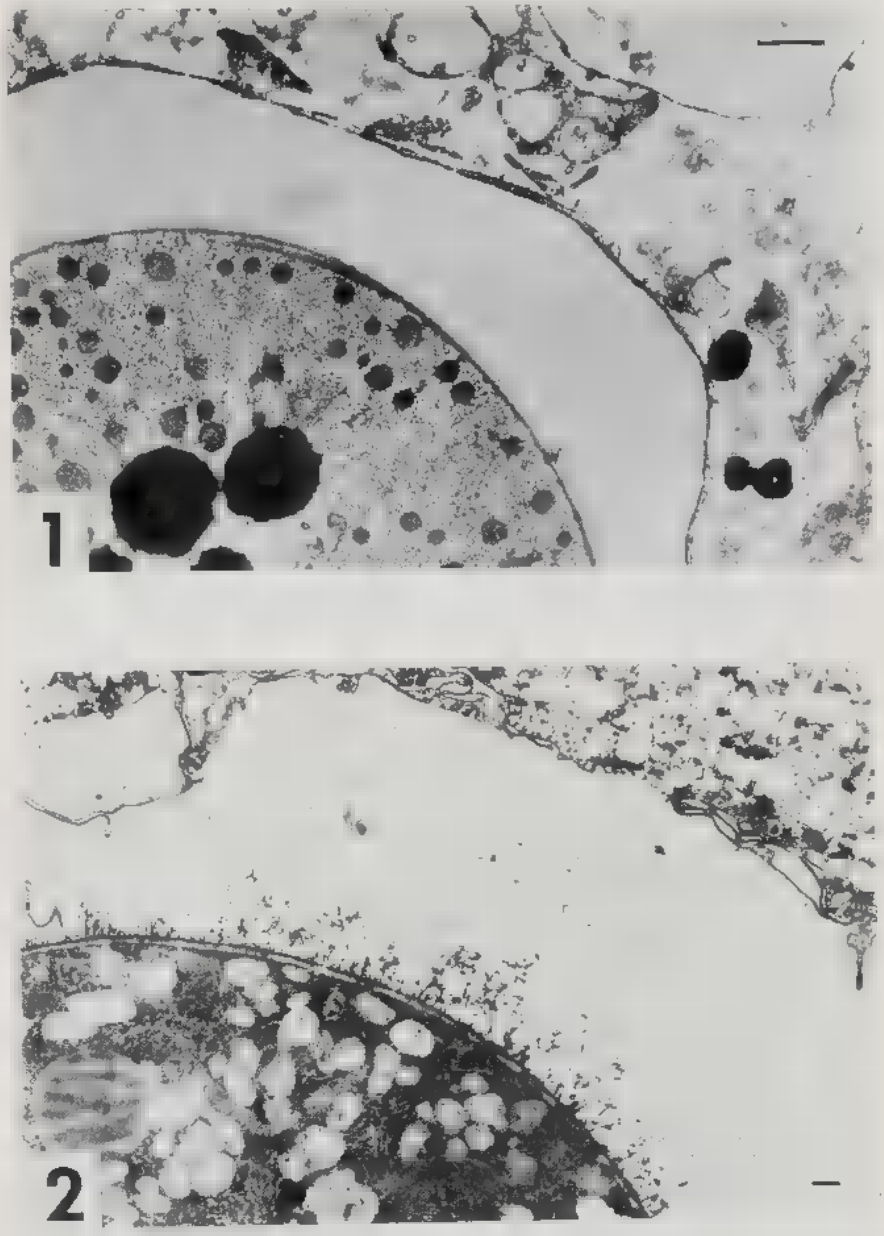
Pl. VI – Allongement des pointes en piliers radiaires. Fig. 1 : *T. dryophilum*. Fig. 2 : *T. melanosporum*.

Source : MNHN, Paris



Pl. VII – Formation de la perispore qui repousse dans l'épiplasme les piliers radiaires (fig. 1) puis de l'épispore et de l'exospore (fig. 2) chez le *T. melanosporum*.

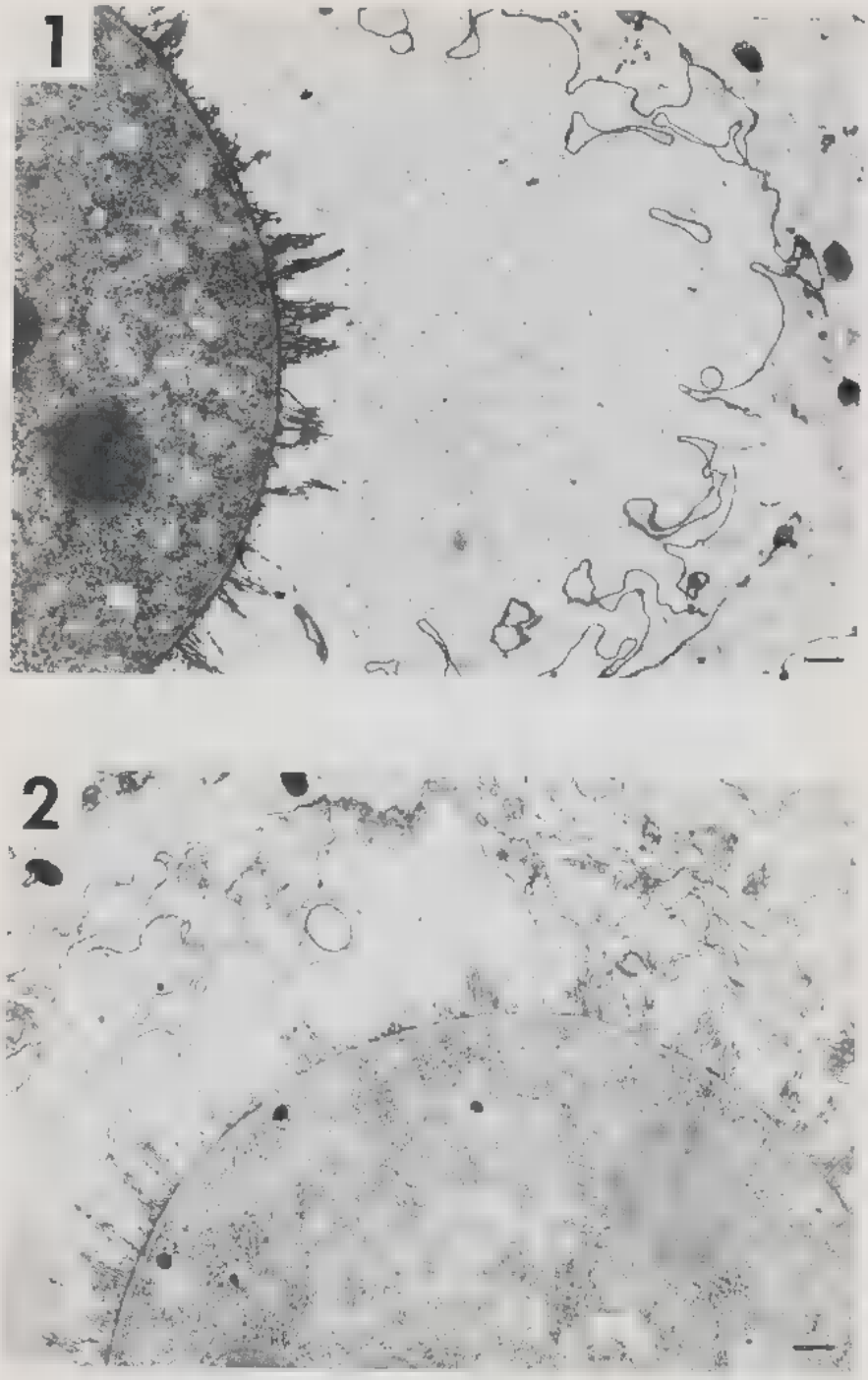
Source : MNHN, Paris



Pl. VIII – Gonflement de la périspore. Fig. 1 : des éléments du réseau endoplasmique sont encore visibles à la surface de la périspore ; *T. uncinatum*. Fig. 2 : formation de dépôts à la surface de l'exospore, *T. melanosporum*.

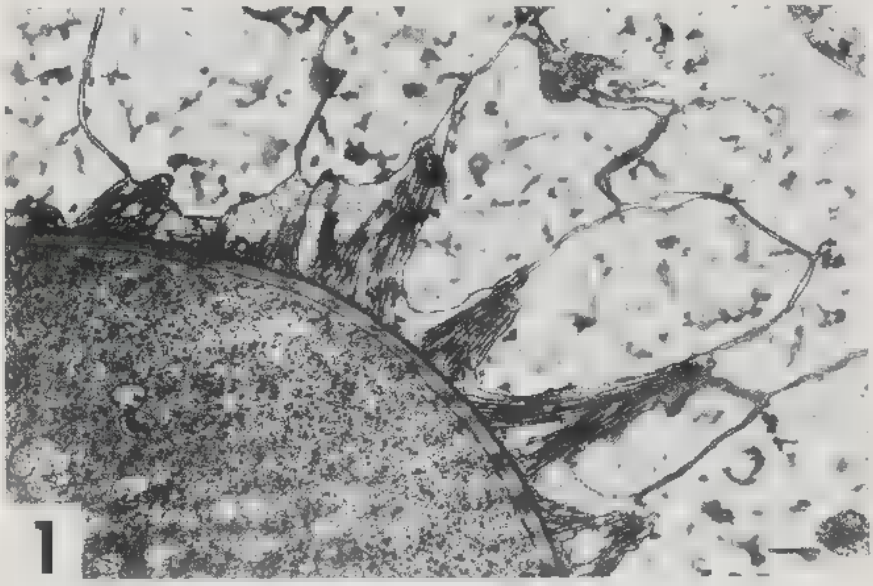
BIBLIOTHÈQUE MUSÉUM PARIS

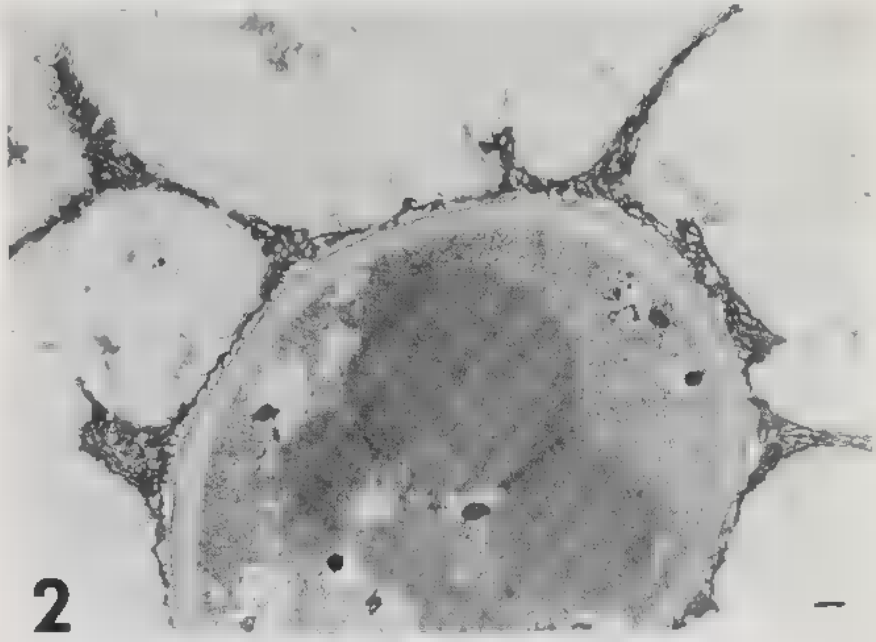
Source : MNHN, Paris



Pl. IX — Formation des épines à partir des dépôts exosporiques chez le *T. melanosporum*. Sur la fig. 1 la périspore est encore dilatée tandis qu'elle régresse sur la fig. 2.

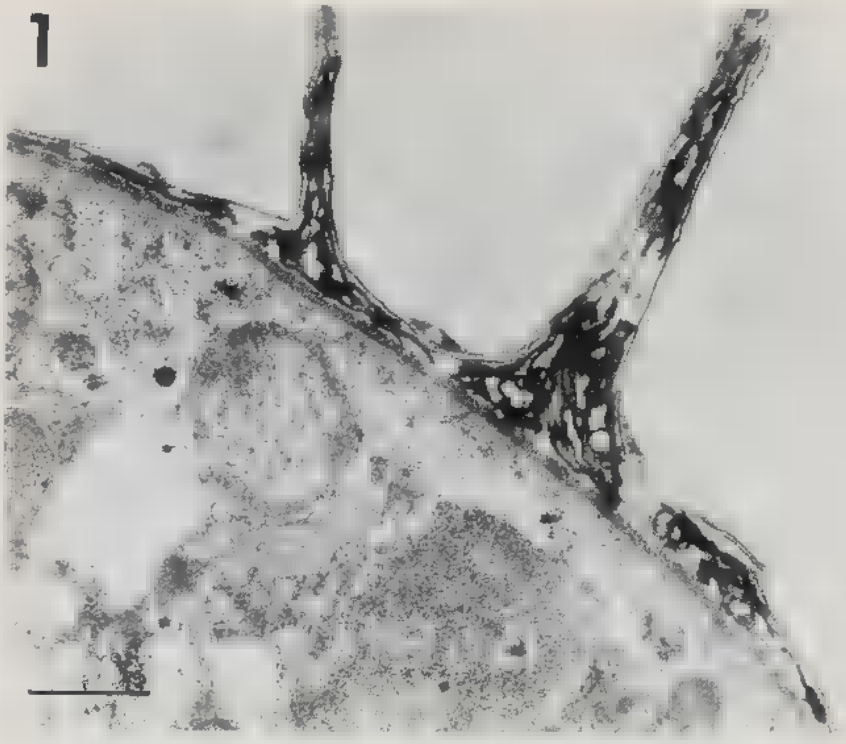
Source : MNHN, Paris

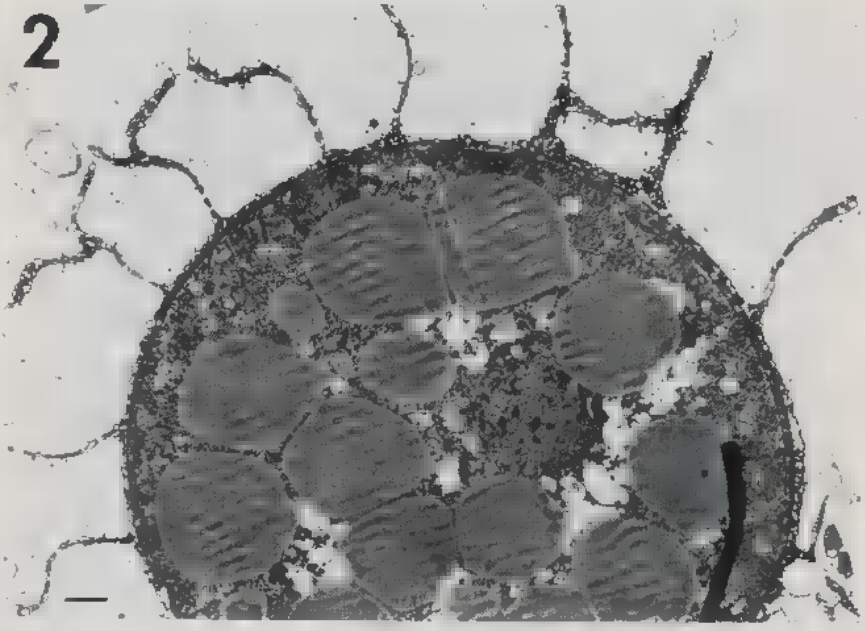




Pl. X — Fig. 1 : rétraction de la périspore, qui s'applique contre les faisceaux coniques de fibres provenant de l'exospore: *T. melanosporum*. Fig. 2 : rétraction de la périspore qui délimite les épines recouvertes par l'ectospore et contenant des filaments irréguliers; *T. uncinatum*.

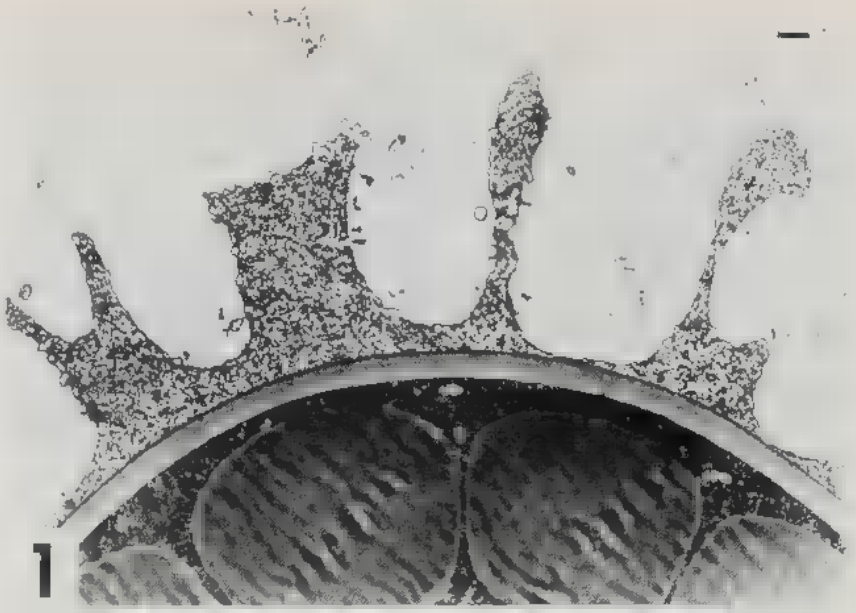
Source : MNHN, Paris

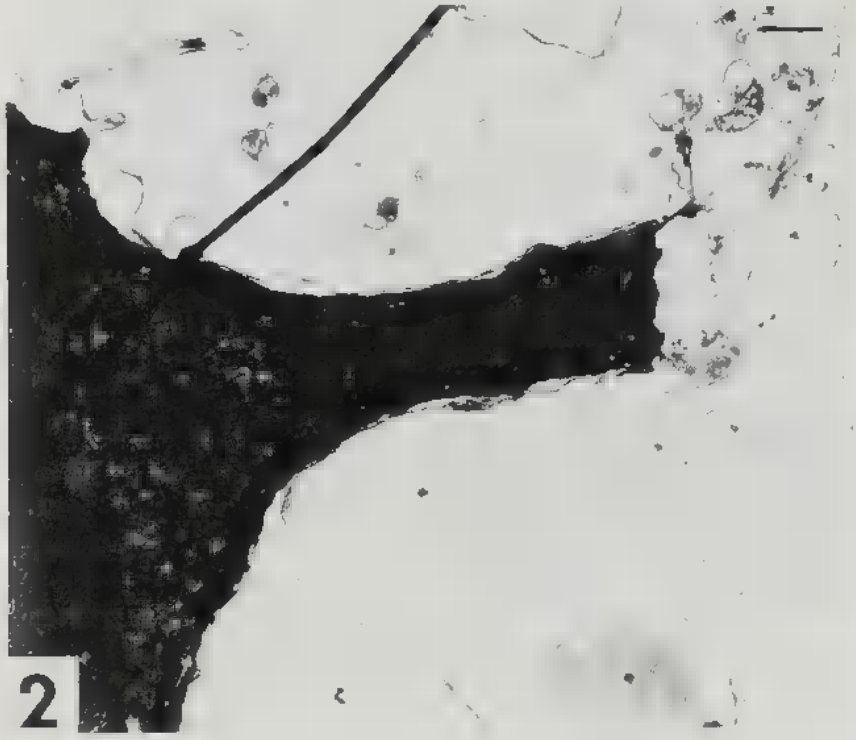




Pl. XI – Fig. 1 : détail des épines périsporiques chez le *T. uncinatum*. Fig. 2 : épines d'origine périsporique chez le *T. dryophilum*.

Source : MNHN, Paris

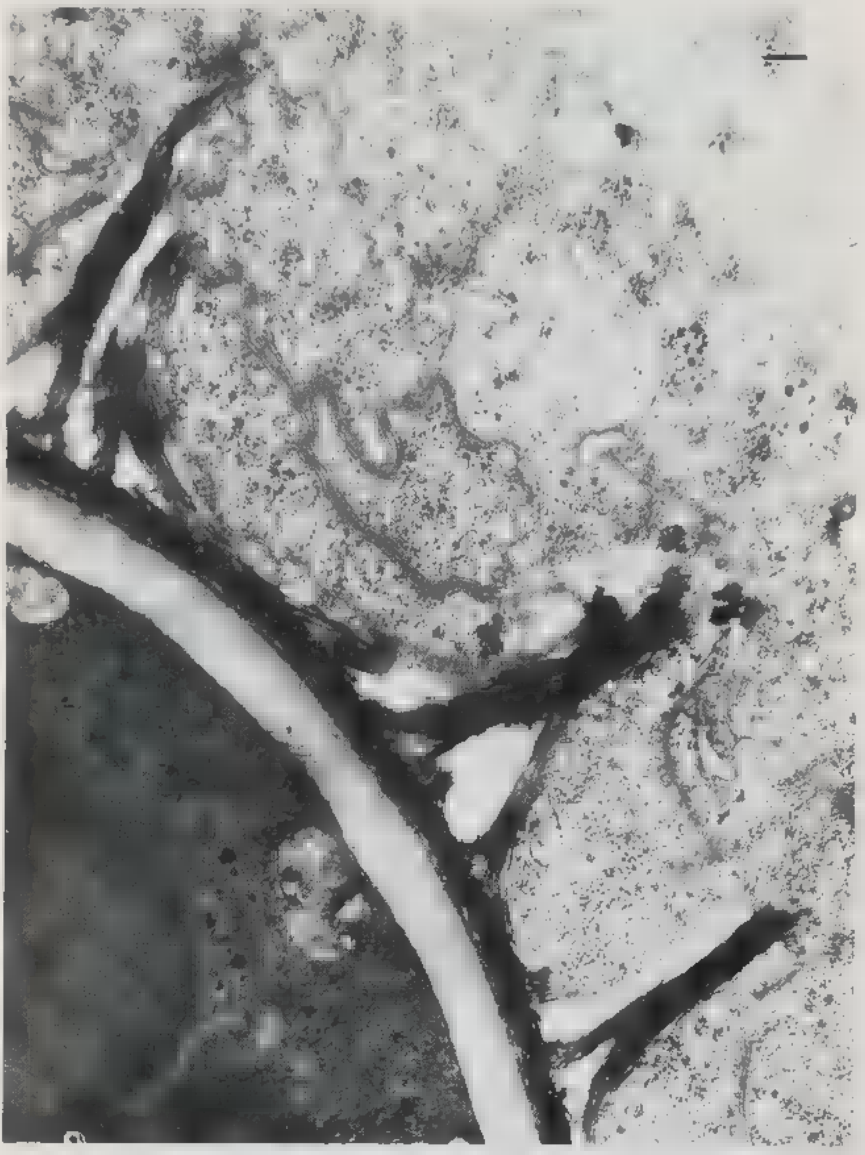




Pl. XII – Fig. 1 : élargissement des épines périsporiques chez le *T. dryophilum*. Fig. 2 : détail d'une épine au stade final : l'ectospore est encore visible: *T. excavatum*.

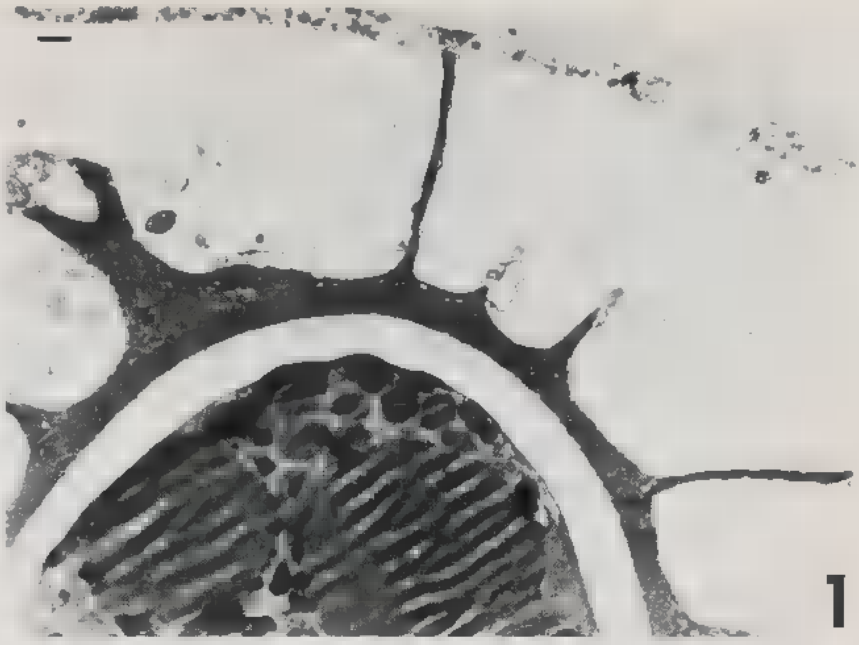
MUSÉUM PARIS

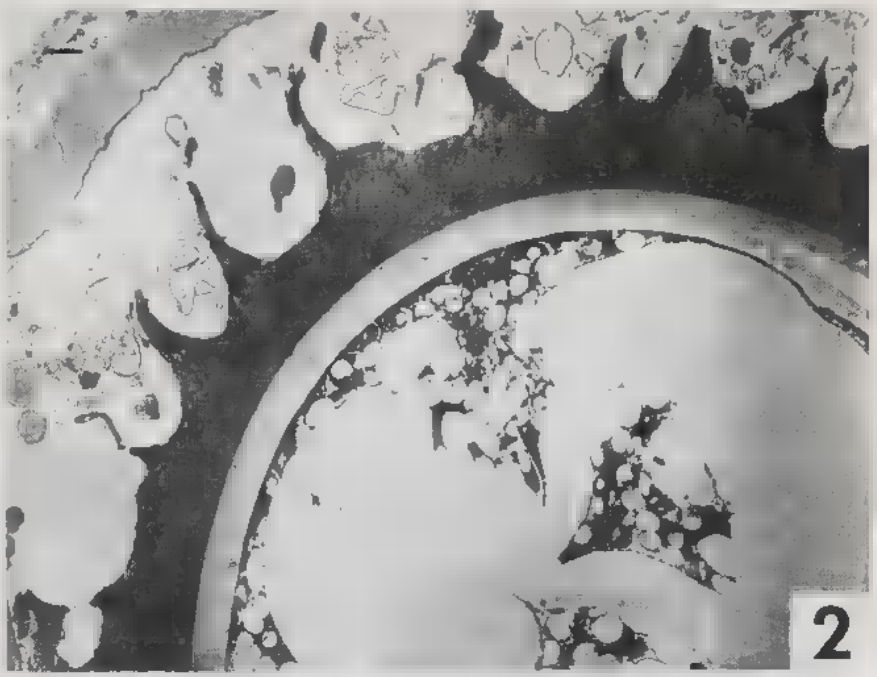
Source : MNHN, Paris



Pl. XIII — Formation d'un voile reliant les extrémités des épines chez le *T. aestivum*.

Source : MNHN, Paris





Pl. XIV – Épaississement et homogénéisation des couches de la paroi qui comporte, au stade terminal, une épispore claire épaisse et régulière et une couche ornementale sombre. Fig. 1 : *T. bituminatum* : l'ectospore est encore distincte à la surface des épines. Fig. 2 : *T. melanosporum*.

MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

COLLOQUE
INTERNATIONAL
CNRS / NASA

THIORÉDOXINES
Structure et fonctions

Dir. : Pierre Gadal
Berkeley – juin 1981

■ mise au point des connaissances sur les thiorédoxines, protéines de faible masse molaire dont l'importance physiologique est de plus en plus reconnue dans l'ensemble du monde vivant
■ propriétés des thiorédoxines et leurs interventions dans le fonctionnement cellulaire.

■ propriétés des thiorédoxines
• leurs rôles dans – la synthèse de l'ADN et la réplication
– l'assimilation de l'azote et du soufre
– la photosynthèse

(30 communications dont 24 en anglais)
résumés anglais français

16 x 24 / 288 p. / broché
87 fig. / 55 tabl. / 8 phot. 230 F
ISBN 2-222-03182-6

Editions du CNRS
15 quai Anatole France. 75700 Paris

librairie, ventes, publicité - 295, rue saint jacques, 75005 paris tél. 326 56.11

Source : MNHN, Paris

OBTENTION DE MYCÉLIUMS ET DE FRUCTIFICATIONS HYBRIDES ENTRE *DICHOSTEREUM DURUM* ET *D. SORDULENTUM* (BASIDIOMYCETES)

par P. LANQUETIN et J. BOIDIN*

RÉSUMÉ. – Par isolement de conidies uninucléées et par utilisation du phénomène de Buller, nous avons tenté d'identifier les noyaux présents dans les hybrides *D. durum* x *D. sordulentum*. Les descendants de la fructification d'un de ces hybrides ont un comportement sexuel homothallique différent du comportement tétrapolaire des parents.

MOTS CLÉS : Basidiomycètes, *Dichostereum*, Hybride interspécifique.

SUMMARY. – By using isolations of uninucleate conidia and by the use of Buller's phenomenon, we have tried to identify the nuclei present in the hybrid mycelia *D. durum* x *D. sordulentum*. The progeny of the fructification of one hybrid mycelia has a homothallic sexual behaviour different from the tetrapolar behaviour of the parents.

Le genre *Dichostereum* Pilat sensu BOIDIN & LANQUETIN (1977a) est facile à distinguer du genre *Vararia* sensu stricto par ses espèces aux spores subsphériques, amyloïdes et plus ou moins ornées. Il est constitué de champignons tétrapolaires dont les mycéliums haploïdes ont des articles terminaux faiblement cénocytiques et dont les mycéliums dicaryotiques bouclés forment des conidiophores œdocéphaloïdes porteurs de petites conidies uninucléées; pour la plupart d'entre eux, des fructifications ont été obtenues sur milieu gélosé.

Les tests d'intercompatibilité, effectués chaque fois que des cultures étaient disponibles ont permis de montrer l'existence d'au moins 8 espèces de *Dichostereum*. L'une d'elles, d'origine américaine, aujourd'hui appelée *D. sordulentum* (Cooke et Massee) Boidin et Lanquetin, très proche du *D. durum* (Bourd. et Galz.) Pilat européen avait été dénommée provisoirement *Vararia* aff. *dura*

* Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S., Université Claude Bernard - Lyon I, Bât. 405, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne - France.

Source : MNHN, Paris

(LANQUETIN 1973) parce que nous ne disposions pas de culture du *D. durum* dont elle se rapproche étroitement par l'ornementation sporale très fine et le type de dichophyses.

Nous avons déjà indiqué (BOIDIN et LANQUETIN 1980) que si toutes les autres espèces étaient totalement interincompatibles, *D. durum* avait donné naissance à l'apparition de boucles dans un très petit nombre de confrontations avec *D. sordulentum*.

Ces mycéliums dicaryotiques «hybrides» obtenus dans les croisements de deux espèces proches mais différentes, nous offraient pour la 1ère fois la possibilité de tenter une étude d'hybrides interspécifiques chez les Basidiomycètes saprophytes. Dans ce travail seront successivement détaillées l'étude de la croissance et de la constitution nucléaire des dicaryons hybrides ainsi que l'étude de la descendance de l'un d'eux.

I. – OBTENTION DE MYCÉLIUMS DICARYOTIQUES HYBRIDES

Comme nous le souhaitions en 1973 (LANQUETIN p. 174) des cultures monospermes d'une récolte française de *Dichostereum durum* LY 9450 ayant pu être isolées en juillet 1979, des haplontes appartenant aux 4 pôles ont été, en septembre 1979, confrontés avec un représentant de chacun des pôles de *D. sordulentum* LY 6627 (= *V. aff. dura* en 1973).

Les confrontations étaient alors toutes négatives à l'exception de trois croisements : deux d'entre eux montraient localement des boucles et des crochets qui ont disparu après le premier repiquage, mais le troisième : $9450/A_1B_2$ n° 6 × $6627/A_1B_2$ n° 9 était totalement bouclé et ce mycélium restait bouclé après repiquages. Refaite plusieurs fois, cette confrontation a toujours donné un mycélium dicaryotique à boucles constantes, qui envahit totalement la boîte en deux mois. Ce mycélium hybride H_1 étant stable et réobtenu systématiquement, il nous a semblé intéressant de voir si d'autres mycéliums hybrides pouvaient être obtenus. A cet effet nous avons effectué le maximum de croisements possibles, compte tenu des cultures dont nous disposions en mycothèque : 12 monospermes de *D. durum* LY 9450 appartenant aux 4 pôles, 1 représentant de chaque pôle de *D. sordulentum* LY 6627, de Louisiane; 2 monoconidiens A et B du *D. sordulentum* LY 6770 (issus de la culture polysperme FP 70855 de Géorgie) et 1 monosperme A du *D. sordulentum* LY 6995 (= G 2395/1 d'Argentine).

84 confrontations ont pu être effectuées, leurs résultats sont réunis dans le tableau I, déjà publié dans BOIDIN et LANQUETIN 1980 (p. 383). Mais ici les cultures porteront les seuls numéros de la mycothèque lyonnaise.

Comme on le voit les résultats sont en grande majorité négatifs. Toutefois dans cinq confrontations notées «c b», les prélèvements sur la ligne de contact des mycéliums ont montré localement des boucles et des crochets, mais après repiquages ces prélèvements ont toujours donné un mycélium sans boucles.

Source : MNHN, Paris

Tableau I

Confrontations de monocaryons du *D. durum* français LY 9450 avec trois *D. sordulentum* américains

c : crochets, b : boucles, H : mycélium hybride bouclé (détails dans le texte)

Confrontations between monosporous cultures of the French *D. durum* LY 9450 and monosporous cultures of three American *D. sordulentum*.

■ : incomplete clamps; b : clamps; H : hybrid clamped mycelium

			DICHOSTEREUM DURUM LY 9450											
			A_1B_1		A_2B_2				A_2B_1		A_1B_2			
	LYn°	N° pôle	1	7	2	3	5	8	9	10	4	6	11	12
DICHOSTEREUM SORDULENTUM	6627	A_1B_1 = 2	c b	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		A_2B_2 = 5	c b	■	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		A_2B_1 = 7	c b	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		A_1B_2 = 9	H 2	H 3	–	–	–	–	–	–	–	H 1	–	–
	6770	A	–	–	–	–	–	–	–	–	–	H 5	–	–
		B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	6695	A	H 4	c b	–	–	–	–	–	–	–	H 6	–	–

Enfin, de vrais mycéliums dicaryotiques à boucles constantes, appelés H 1 à H 6, ont été obtenus dans six confrontations.

Quelques observations sont à faire sur l'obtention de ces mycéliums hybrides :

H 1 – Dans la confrontation 9450 A_1B_2 n° 6 x 6627 A_1B_2 n° 9, l'hybride H 1 a été obtenu très aisément dans les quatre essais successifs, c'est-à-dire que cette confrontation se comporte exactement comme un croisement de deux monospermes provenant de deux récoltes différentes de la même espèce. Au bout de 6 à 8 semaines, le mycélium dicaryotique couvre entièrement la boîte de la ligne de contact aux extrémités des anciens territoires de chaque haplonte. De plus, ces essais étalés sur 8 mois semblent montrer que la formation de l'hybride n'exige pas une extrême jeunesse des cultures monospermes en présence (dans le dernier essai LY 9450 A_1B_2 = 6 est âgé de 8 mois et LY 6627 A_1B_2 = 9 est âgé de 8 ans.

H 2 – Dans la confrontation 9450 A_1B_1 n° 1 x 6627 A_1B_2 n° 9, l'observation à 6 semaines montre, sur les hyphes de la ligne de contact, de nombreuses boucles et crochets, mais ces boucles ne sont pas constantes et le mycélium situé à l'extrême du territoire des monospermes est totalement dépourvu de boucles. Toutefois un prélèvement effectué sur la ligne de contact donne, après repiquage, une culture H 2 totalement bouclée.

Source : MNHN, Paris

H 3 – Dans la confrontation 9450 A_1B_1 n° 7 x 6627 A_1B_2 n° 9, à trois semaines le mycélium prélevé sur la ligne de contact montre localement de nombreuses boucles, des fausses boucles et des crochets. Les boucles sont observées le plus souvent dans des zones où les hyphes paraissent dégénérées. Toutefois une bouture prélevée sur la ligne de contact donne une culture aux hyphes entièrement bouclées. Observées à 8 semaines, les boîtes contiennent un mycélium totalement dicaryotisé, tant à la ligne de contact qu'aux bords extrêmes de la culture.

H 4 – La confrontation 9450 A_1B_1 n° 1 x 6695/A, âgée de trois semaines est totalement négative. Le monosperme LY 9450/1 forme un mycélium aérien laineux tandis que LY 6695/A est totalement dépourvu de mycélium aérien. A quatre semaines, un mycélium aérien duveteux blanc apparaît sur la ligne de contact, puis il envahit lentement le territoire de LY 6995/A. Ce mycélium est localement très riche en boucles et crochets. A huit semaines il couvre totalement le territoire de LY 6995/A. Les prélèvements effectués sur la ligne de contact et aux extrémités des territoires de chaque haplonte montrent tous des boucles constantes. Ce mycélium dicaryotique est appelé H 4. 7 semaines plus tard, les cultures repiquées sont totalement dépourvues de boucles. H 4 est considéré alors comme un mycélium hybride instable.

H 5 – Dans la confrontation 9450 A_1B_2 n° 6 x 6770/A, âgée de trois semaines, des boucles et des crochets sont observés à la ligne de contact sur des hyphes étroites, non sur les hyphes axiales. La subculture effectuée à ce moment-là donne un mycélium totalement dépourvu de boucles. Mais à 5 semaines, un mycélium aérien se forme sur la ligne de contact, il est bouclé et à huit semaines il a envahi progressivement tout le territoire de 6770/A. Après repiquage, il est totalement bouclé, c'est le mycélium hybride H 5.

H 6 – Dans la confrontation 9450 A_1B_2 n° 6 x 6995/A, les prélèvements sont totalement négatifs à 5 semaines mais à 8 semaines un mycélium aérien lâche apparaît sur la ligne de contact et envahit peu à peu le territoire du monosperme 6995/A qui était totalement dépourvu de mycélium aérien à 5 semaines. Ce mycélium aérien bouclé, appelé H 6, est repiqué, alors que les territoires extrêmes des monospermes sont sans boucles. Huit semaines plus tard, le troisième repiquage du mycélium hybride H 6 s'est révélé totalement dépourvu de boucles. Il s'agit donc d'un mycélium hybride instable. Il est alors en effet, comme le mycélium haploïde, constitué d'hyphes aux articles en majorité uninucléés mais aussi bi- et tri-nucléés, avec des articles terminaux à 2, 3 ou 5 noyaux et des chlamydospores qui en contiennent 3 à 8.

Aux observations précédentes ajoutons que chez *D. durum* et *D. sordulentum*, les confrontations de monospermes appartenant à des pôles complémentaires sont totalement dicaryotisées en moins d'un mois. Il en est de même pour les confrontations entre monospermes de nos différentes souches de *D. sordulentum*, tandis que les quelques confrontations positives obtenues entre *D. durum* et *D. sordulentum* ne sont dicaryotisées qu'après deux mois. Signalons également qu'à l'âge de deux mois, aucune des confrontations *D. durum* x

Source : MNHN, Paris

D. sordulentum ne montre la moindre ligne brune pourtant présente dans toutes les confrontations négatives que nous avons pu observer entre souches incompatibles de *Dichostereum* (cf. LANQUETIN 1973, tab. 1, p. 171). C'est seulement dans les cultures plus âgées, trois à quatre mois, que les confrontations négatives entre *D. durum* et *D. sordulentum* ont révélé au contact des mycéliums soit une fine ligne brune soit le plus souvent des fragments de ligne brune. Par contre, les confrontations ayant donné naissance aux mycéliums hybrides H 1 à H 6 n'ont jamais montré de ligne ou fragments de ligne brune.

Croissance des mycéliums hybrides stables

Après une étude comparée, sur milieu de Nobles, des mycéliums *D. durum* LY 9450, *D. sordulentum* LY 6627, 6770 et 6995 et des mycéliums hybrides stables H 1 - H 2 - H 3 - H 5, on constate que pour *D. durum* et les trois souches de *D. sordulentum* les mycéliums remplissent totalement les boîtes à 3 semaines tandis que les mycéliums hybrides couvrent les boîtes en cinq mais le plus souvent six semaines. Leur vitesse de croissance est donc nettement inférieure à celle des deux espèces qui les composent. Leur pigmentation est également bien inférieure : tandis que le mycélium de *D. durum* âgé de 6 semaines est beige foncé à cannelle pâle, et celui de *D. sordulentum* faiblement crème alutacé, les mycéliums hybrides sont totalement blancs sauf H 2 et H 3 qui se teintent très légèrement d'isabelle pâle avec le temps.

Toutes les cultures étant placées dans les mêmes conditions de température et d'éclairement, seuls les mycéliums de *D. durum* fructifient aisément au bout de 4 à 5 semaines, ceux de *D. sordulentum* fructifièrent en 1972 au bout de 8 semaines mais semblent avoir perdu ce pouvoir. Parmi les mycéliums hybrides, seul H 5 a donné des petites plages fructifiées dans des cultures âgées de trois mois à trois mois et demi.

Oxydases : comme leurs constituants, tous les hybrides donnent une forte réaction sur les milieux à l'acide gallique et au gaïacol (sur ce dernier les boutures rougissent instantanément), une réaction nulle vis-à-vis du paracrésol. Mais sur le milieu à la tyrosine, la réaction négative des mycéliums hybrides est identique à celle de *D. durum*, car *D. sordulentum* donne toujours une réaction positive.

Cytologie : les mycéliums H 1, H 2, H 3 et H 5 sont constitués d'hyphes aux articles régulièrement binucléés et bouclés; ils forment des conidiophores porteurs de conidies uninucléées.

Type de conidies : dans les mycéliums hybrides, nous avons observé les deux types de conidies, ovoïdes à paroi mince (type *D. sordulentum*) et sphériques à paroi épaisse (type *D. durum*), avec le plus souvent une prédominance des conidies ovoïdes.

L'étude des mycéliums issus de ces conidies haploïdes nous a semblé un moyen commode pour identifier les noyaux présents dans les dicaryons hybrides obtenus.

Source : MNHN, Paris

II. – CONSTITUTION NUCLÉAIRE DES MYCÉLIUMS DICARYOTIQUES HYBRIDES

ÉTUDE DE H 1 : *D. durum* 9450 $A_1 B_2$ n° 6 x *D. Sordulentum* 6627 $A_1 B_2$ n° 9

De l'eau stérile est versée délicatement sur de jeunes cultures, elle entraîne avec elle les conidies qui sont ensuite dispersées sur milieu de Nobles.

Dans une première tentative, 100 germinations très jeunes sont prélevées après 3 jours : 5 seulement se développent.

Dans un deuxième essai, les prélèvements sont effectués plus tardivement à 8 jours. On observe alors des germinations un peu développées et d'autres très petites. 100 prélèvements variés sont effectués. Parmi les petites germinations, 40 sont repérées (au moyen de petits carrés dessinés sur la gélose à l'aide de l'aiguille) mais non prélevées afin de pouvoir les surveiller en place; aucune ne s'est développée par la suite.

Sur les 100 prélèvements, 81 se sont développés; observés au bout de 10 jours, ils sont tous constitués d'hyphes sans boucles, montrant de nombreuses chlamydospores et des conidiophores produisant des conidies ovoïdes du type *D. sordulentum*. Tout laisse à penser que nous avons isolé le noyau *D. sordulentum* 6627 $A_1 B_2$ n° 9, ce que nous avons vérifié en étudiant le :

Comportement des monoconidiens H 1

30 monoconidiens H 1 ont été confrontés avec des monocaryons complémentaires des monospermes constituant l'hybride. C'est-à-dire avec 9450 $A_2 B_1$ n° 9 et 6627 $A_2 B_1$ n° 7. Tous se révèlent compatibles avec 6627 $A_2 B_1$ n° 7 et totalement incompatibles avec 9450 $A_2 B_1$ n° 9.

Le monoconidien n° 11 a été confronté plusieurs fois avec les 4 pôles 6627 et avec les 2 monospermes 9450 $A_2 B_1$ n° 9 et n° 10, seul le monocaryon 6627 $A_2 B_1 = 7$ est dicaryotisé.

22 monoconidiens ont été également confrontés avec 9450 $A_1 B_2 = 6$ pour tester la capacité de ces noyaux «*sordulentum*» à refaire des hybrides avec *D. durum*. Sur les 22, 11 monoconidiens H 1 refont un mycélium hybride dicaryotique en présence de 9450 $A_1 B_2 = 6$. Mais dans les confrontations effectuées avec le monosperme 9450 n° 11 appartenant également au pôle $A_1 B_2$, aucun mycélium hybride n'est apparu.

En résumé, les conidies haploïdes isolées contenaient le noyau de *D. sordulentum*; elles germent en donnant un mycélium dont le comportement est identique à celui du monosperme LY 6627 $A_1 B_2 = 9$. Mais, contrairement à notre espoir, par l'isolement des conidies nous n'avons pas obtenu les deux noyaux constituant le mycélium hybride. Seule deux germinations ont développé un mycélium porteur de conidies rondes type *D. durum*, très vite elles ont montré quelques boucles, puis un mycélium totalement bouclé, alors que 80 monoconidiens d'une culture de *D. durum* sont toujours restés dépourvus de boucles.

Source : MNHN, Paris

Pour tenter de mettre en évidence le noyau de *durum* contenu dans le mycélium H 1 nous avons étudié le comportement du mycélium hybride en phénomène de Buller face à divers monocaryons de *D. durum* et de *D. sordulentum*.

Comportement du mycélium hybride H 1 en phénomène de Buller*

	à 2 mois	à 3 mois
H 1 x 9450 A_1B_1 = 7	– – –	– – +
H 1 x 9450 A_2B_2 = 8	– – -	- – –
H 1 x 9450 A_2B_1 = 9	+ + +	
H 1 x 9450 A_2B_1 = 10	– – – –	– – – +
H 1 x 9450 A_1B_2 = 11	– + +	– + +
H 1 x 6627 A_1B_1	-	
H 1 x 6627 A_2B_2	– –	
H 1 x 6627 A_2B_1	– –	
H 1 x 6627 A_1B_2	– –	
H 1 x 6995 / A	-	– à 5 mois
H 1 x 6770 / B	–	– à 5 mois

Dans ces confrontations de type di-mon. tout se passe comme si le noyau *D. sordulentum* était incapable de dicaryotiser le monocaryon de *D. sordulentum* complémentaire alors que le noyau de *durum* «bulleriserait» son complémentaire. A noter cependant que si le noyau *D. durum* de H 1, A_1B_2 = 6 dicaryotise très bien son complémentaire n° 9, il ne dicaryotise qu'une fois sur 4 et très tard son autre complémentaire n° 10 alors qu'il aurait en outre dicaryotisé après un délai plus ou moins long les noyaux de *durum* A_1B_1 = 7 et A_1B_2 = 11, ce dernier appartenant à son propre pôle; dans cette hypothèse, le noyau de *durum* serait modifié.

Une autre hypothèse serait de considérer ces derniers dicaryons comme dus à une réhybridation par passage du noyau de *sordulentum*; option difficile à soutenir puisque ce noyau n'a pas pu «bullériser» son propre pôle complémentaire.

ÉTUDE DE H 2 : *D. durum* 9450 A_1B_1 n° 1 x *D. sordulentum* 6627 A_1B_2 n° 9

Après dispersion des conidies de la culture H 2, 12 prélèvements sont effectués à deux jours et 28 prélèvements à six jours. Sur ces 40 isolements, 24 seulement se sont développés en donnant un mycélium dépourvu de boucles et formant des conidiophores porteurs de conidies ovoïdes de type *D. sordulentum*.

Tout de suite après la récupération de ses conidies pour les dispersions la culture H 2 est repiquée. Elle forme alors un mycélium où l'on observe une forte

* Dans l'expression de nos résultats : chaque signe de la 1ère colonne correspond à une confrontation et chaque signe de la 2ème colonne indique, dans le même ordre, le devenir de ces mêmes confrontations.

Source : MNHN, Paris

proportion de conidies rondes type *D. durum*. Une nouvelle dispersion est tentée dans l'espoir d'isoler un deuxième type de monoconidiens. Mais les 67 monoconidiens obtenus sur 67 prélèvements se révèlent une fois encore formés d'hyphes sans boucles portant des conidiophores à conidies ovoïdes. Comme pour H 1 tout se passe comme si les conidies rondes même abondantes ne germaient pas.

Comportement des monoconidiens de H 2

30 monoconidiens de H 2 ont été confrontés avec :

1) LY 9450 A_2B_2, n° 2 et n° 3 : monospermes complémentaires du monocaryon *D. durum* constituant l'hybride H 2. Les 60 confrontations restent négatives.

2) LY 6627 A_2B_1 n° 7 : (seul monosperme de type A_2B_1 conservé en collection depuis 1972) complémentaire du monosperme de *sordulentum* constituant l'hybride H 2. Les 30 confrontations sont positives sur la ligne de contact et les boucles se maintiennent en subcultures; les mycéliums sont irrégulièrement dicaryotisés, parfois totalement, parfois seulement d'un côté et le plus souvent celui du monosperme 6627.

3) avec 9450 A_1B_1 n° 1 (pour tester la capacité des monoconidiens à refaire des hybrides). Ici, 18 confrontations sur 30, forment un mycélium dicaryotique à la ligne de contact seulement, les extrêmes ne sont jamais dicaryotisés. Le mycélium dicaryotique obtenu se maintient bouclé dans les subcultures.

Les monoconidiens de H 2 possèdent donc tous le noyau de *sordulentum* LY 6627 $A_1B_2 = 9$, compatible avec 6627 $A_2B_1 = 7$ et capable, dans un peu plus de la moitié des confrontations, de reformer avec 9450 $A_1B_1 = 1$, un mycélium hybride identique à H 2.

Comportement du mycélium hybride H 2 confronté en phénomène de Buller avec les monospermes complémentaires des monocaryons constituants H 2 et avec d'autres monospermes de *durum* et de *sordulentum*.

	à 2 mois	à 5 mois
H 2 x 6627 A_2B_1 n° 7	–	–
H 2 x 6770 / A	–	–
H 2 x 6995 / A	–	–
H 2 x 9450 A_2B_2 n° 2	+	
H 2 x 9450 A_2B_2 n° 3	+	
H 2 x 9450 A_2B_2 n° 5	+	
H 2 x 9450 A_2B_1 n° 9	– – – – –	+ + + –
H 2 x 9450 A_2B_1 n° 10	– –	– (+) localement
H 2 x 9450 A_1B_2 n° 6	–	(+)

Le résultat de ces confrontations montre la présence dans le dicaryon H 2 du noyau *D. durum* 9450 $A_1B_1 = 1$. En outre on constate que le noyau de

Source : MNHN, Paris

sordulentum présent dans H 2 puisqu'isolé dans les monoconidiens, ne réagit pas dans les confrontations di-mon. avec d'autres monospermes de *D. sordulentum* et on s'explique mal l'apparition tardive des mycéliums dicaryotiques dans les confrontations di-mon. avec les monospermes *durum* n° 6 - 9 et 10. Certes on aurait pu penser que le noyau «*sordulentum*» de H 2 réagissait en face de certains noyaux «*durum*» pour former des mycéliums dicaryotiques hybrides mais, une fois encore, cette hypothèse est-elle plausible si le noyau «*sordulentum*» ne réagit pas en phénomène de Buller ?

ÉTUDE DE H 3 : 9450 A_1B_1 n° 7 x 6627 A_1B_2 n° 9

Sur 50 monoconidiens isolés, 27 seulement se sont développés. Ils sont sans boucles et semblent ne former que des conidies ovoïdes.

Comportement des monoconidiens H 3

Ils ont été confrontés avec :

1) 2 monospermes complémentaires du monosperme *D. durum* ayant formé l'hybride H 3, 9450 A_2B_2 = 2 et 9450 A_2B_2 = 3. Les 54 confrontations sont restées négatives.

2) avec le monosperme 6627 A_2B_1 = 7, monosperme complémentaire du monosperme 6627 A_1B_2 = 9 ayant formé l'hybride H 3. Ici les 27 confrontations sont positives. Elles sont irrégulièrement dicaryotisées, parfois totalement, parfois d'un côté seulement et plus fréquemment du côté du monosperme LY 6627 (culture pourtant bien plus âgée que les monoconidiens).

Les monoconidiens H 3 possèdent donc tous le noyau de *sordulentum* LY 6627 A_1B_2 = 9 compatible avec le pôle complémentaire LY 6627 A_2B_1 = 7.

3) Ils ont été confrontés également avec LY 9450 A_1B_1 = 7 pour tester leur aptitude à reformer un mycélium dicaryotique hybride identique à H 3. Dans 20 confrontations sur 27, il apparaît sur la ligne de contact un mycélium dicaryotique qui se maintient en subcultures mais ne dicaryotise jamais les extrêmes.

En résumé, tous les monoconidiens isolés possèdent le noyau de *D. sordulentum* LY 6627 A_1B_2 n° 9 et plus des deux tiers sont capables de reformer un mycélium hybride dicaryotique identique à H 3.

Comportement du mycélium H 3 confronté en phénomène de Buller avec des monospermes complémentaires des haplontes constituants H 3, et avec d'autres monospermes de *sordulentum*.

	à 2 mois	à 5 mois
H 3 x 6627 A_2B_1 n° 7	–	–
H 3 x 6770 / A	–	–
H 3 x 6995 / A	–	–
H 3 x 9450 A_2B_2 n° 5	+	

Source : MNHN, Paris

	à 2 mois	à 5 mois
H 3 x 9450 A_2B_2 n° 8	+	
H 3 x 9450 A_2B_2 n° 2	+	

Les confrontations avec *D. durum* sont totalement positives au bout de deux mois.

Des confrontations avec *D. sordulentum* 6627 A_2B_1 n° 7 et les autres monospermes de *sordulentum* LY 6770/A et LY 6995/A ont été répétées et suivies pendant 5 mois : les résultats sont toujours restés négatifs.

En phénomène de Buller, le noyau de *durum*, (9450 A_1B_1 n° 7) de H 3 semble seul pouvoir dicaryotiser des monospermes complémentaires.

D'autres confrontations ont été tentées avec d'autres pôles de *D. durum*

	à 2 mois	à 3 mois
H 3 x 9450 A_1B_2 n° 6	– (+)	– +
H 3 x 9450 A_1B_2 n° 11	– +	– +
H 3 x 9450 A_2B_1 n° 9	– –	– +
H 3 x 9450 A_2B_1 n° 10	–	– –

Comme avec les hybrides H 1 et H 2, les confrontations di-mon. si elles sont observées tardivement permettent d'enregistrer des résultats plus ou moins positifs avec les pôles non complémentaires du noyau de *durum* constituant H 3.

ÉTUDE DE H 4 : 9450 A_1B_1 n° 1 x 6995/A

Après 3 repiquages, ce mycélium hybride alors âgé de deux mois a totalement perdu ses boucles. 74 cultures monoconidiennes ont cependant été isolées. Toutes développent un mycélium aux hyphes dépourvues de boucles formant des conidiophores porteurs de conidies rondes type *D. durum*.

Comportement des monoconidiens de H 4 débouclé.

Étant donné la présence de conidies rondes on pouvait penser que seul le noyau *D. durum* 9450 A_1B_1 subsistait dans la culture H 4 débouclée et que tous les monoconidiens isolés possédaient ce noyau. Pour vérifier cette hypothèse, 30 monoconidiens ont été confrontés avec :

1) deux monospermes *D. durum* complémentaires de 9450 A_1B_1, soit 9450 A_2B_2 = 2 et 9450 A_2B_2 = 8.

2) le monosperme 6995/A pour voir s'ils pouvaient réformer des mycéliums hybrides identiques à H 4.

Les 90 confrontations sont restées totalement négatives. Les monoconidiens n'ont donc pas le noyau de *durum* et ils doivent alors posséder le noyau de *sordulentum* 6995/A. Comme nous n'avons pas de monosperme complémentaire de 6995/A, nous avons pallié cette absence en confrontant 10 monoconidiens

Source : MNHN, Paris

H 4 avec chacun des pôles de *D. sordulentum* LY 6627. Les 40 confrontations positives permettent d'affirmer que les monoconidiens de H 4 débouclé possèdent le noyau de *sordulentum*. 6995/A compatible avec les 4 pôles d'une autre souche géographique de *D. sordulentum*. Ces monoconidiens, possédant le noyau «*sordulentum*» mais produisant des conidies rondes type «*durum*», nous ont conduit à émettre l'hypothèse qui consistait à considérer le mycélium H 4 débouclé comme un mycélium resté cependant hétérocaryotique où coexistaient les deux types de noyaux devenus incapables de former des boucles.

Pour vérifier l'éventuelle présence du noyau de *durum*, le mycélium hybride H 4 débouclé a été confronté avec des monospermes complémentaires du noyau de *durum* A_1B_1 constituant l'hybride soit :

H 4 x 9450 A_2B_2 n° 2
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 3
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 5
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 8

Après cinq mois, ces confrontations étant restées négatives, le mycélium H 4 débouclé a été confronté avec 6770/A et 6770/B d'une autre souche de *D. sordulentum*. Dans les deux confrontations des boucles sont apparues mais l'observateur avait de quoi rester perplexe car il a vu se former sur la bouture H 4, et non à la ligne de contact, un mycélium aérien blanc qui envahit progressivement le territoire du monosperme B. Seul le mycélium aérien est bouclé, les prélèvements effectués en profondeur restent négatifs. Dans la confrontation avec 6770/A, le mycélium aérien blanc, bouclé, reste cantonné sur le territoire de H 4 et ne dicaryotise pas le mycélium 6770/A.

De telles observations ont conduit à réexaminer les repiquages de H 4 gardés en mycothèque: tous présentaient alors un mycélium aérien blanc totalement bouclé et binucléé alors, qu'au début, ces repiquages n'avaient pas de mycélium aérien. Nous ne savions pas quel facteur avait pu déclencher le «rebouclage» du mycélium hybride H 4, mais il était désormais possible d'étudier ce mycélium hybride H 4 rebouclé.

Ses conidies sont rondes en grande majorité mais il y a aussi un petit nombre de conidies ovoïdes indiscutables. 4 à 6 jours après la dispersion des conidies, 27 prélèvements ont été effectués, 23 se sont bien développés. Observés à 10 jours, 15 sont bouclés et 8 restent dépourvus de boucles. Le comportement de ces derniers est résumé dans le tableau ci-après.

Comportement des monoconidiens de H 4 après son rebouclage

Nombre de monoconidiens	x *D. sordulentum*	résultats à 6 semaines
8	x 6627 A_1B_1	+ + + + + + + +
8	x 6627 A_2B_2	+ + + + + + + +
8	x 6627 A_2B_1	+ + + + + +
8	x 6627 A_1B_2	+ + + + + + + +
8	x 6770 / A	+ + + + + + + +

Source : MNHN, Paris

8	x *D. durum*	à 2 mois	à 6 mois
8	x 9450 A_2B_2 n°5	– – – – – – – –	– – – – – – – +
8	x 9450 A_2B_2 n°3	– – – – – – – – –	– – – – – – – –
8	x 9450 A_2B_2 n°8	– – – – – – – – –	– – – –
8	x 9450 A_1B_2 n°6	– – – – – – –	– – – – ∓ ∓ ∓ +
8	x 9450 A_2B_1 n°9	– – – – – – – –	+

Précisons qu'avec *D. sordulentum*, les très nombreux résultats positifs, apparus assez rapidement sur la ligne de contact ont toujours été assortis d'une dicaryotisation lente et incomplète, s'effectuant de préférence du côté des monospermes *sordulentum*, les monoconidiens H 4 n'étant le plus souvent pas dicaryotisés.

Avec *D. durum* les résultats positifs exceptionnels (6 sur 40) sont apparus très tardivement. Les 3 confrontations (∓) ont montré localement des boucles et les 3 confrontations positives se sont révélées totalement bouclées.

Les monoconidiens de H 4 qui donnent rapidement des boucles avec les différents monospermes de *sordulentum* possèdent donc tous le noyau de *sordulentum* 6995/A, capable dans quelques cas de former des mycéliums hybrides avec des noyaux de *durum*. A noter que ces mycéliums hybrides apparaissent après plusieurs mois, avec formation d'un mycélium aérien lâche sur la ligne de contact, qui envahit ensuite progressivement le territoire des monoconidiens (auparavant dépourvu de mycélium aérien). Ces images rappellent beaucoup les confrontations ayant donné naissance aux mycéliums hybrides H 4, H 5 et H 6. Enfin ajoutons que tous les monoconidiens de H 4 sont tyrosine +++, caractère spécifique de *D. sordulentum*.

Comme pour les hybrides H 1, H 2 et H 3, l'étude des monoconidiens H 4 permet d'affirmer la présence du noyau de *sordulentum* dans le dicaryon hybride H 4.

Comportement du mycélium hybride H 4 rebouclé confronté en phénomène de Buller.

	à 2 mois		à 4 mois		à 6 mois	
H 4 x 9450 A_1B_1 n° 1	∓	∓	+	+	+r	+t
H 4 x 9450 A_1B_1 n° 7	–	–	–	–	+t	+t
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 2	+ t		+ t			
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 3	+ t		+ t			
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 5	+ l	+ t	+ t	+ Fr.		
H 4 x 9450 A_2B_2 n° 8	+	+	+ t	+ t		
H 4 x 9450 A_2B_1 n° 9	+ l	+ t	+ t	+ t		
H 4 x 9450 A_2B_1 n°10	+ t	–	+ t	+ l		
H 4 x 9450 A_1B_2 n° 6	+ l	+ l	+ t	+ t		
H 4 x 9450 A_1B_2 n°11	–	–	–	+ t	+t	+Fr

Source : MNHN, Paris

	à 2 mois			à 5 mois		
H 4 x 6770/A	-	$\bar{+}$	$\bar{+}$	-	+ 1	
H 4 x 6770/B	-	+ 1	+ 1	-	+ 1	+ 1
H 4 x 6627 A_1B_1	-	-	-	-	-	-
H 4 x 6627 A_2B_2	-	-	+ 1	-		+ 1
H 4 x 6627 A_2B_1	+ 1	+ 1	+ 1	+ 1		
H 4 x 6627 A_1B_2	-	-	+ 1	-		+ 1

$\bar{+}$: quelques boucles; + 1 : boucles seulement observées dans une zone limitée à l'arrière de l'implant monosperme; + t : bouclés totalement jusqu'aux bords extrêmes de la culture monosperme; + Fr : fructification observée avec basides bouclées.

Les résultats enregistrés avec le mycélium hybride H 4 rebouclé sont tout à fait conformes à ceux que nous avons obtenus avec H 1, H 2, H 3. En confrontation di-mon., les noyaux de *durum* sont bien dicaryotisés.

ÉTUDE DE H 6 : 9450 A_1B_2 n° 6 x 6995/A

Comme le mycélium hybride H 4, après 3 repiquages le mycélium hybride H 6 a totalement perdu ses boucles à l'âge de deux mois. Toutefois 20 monoconidiens ont été isolés à partir de cette culture débouclée, tous sont formés d'hyphes sans boucles et portent des conidiophores produisant en grande majorité des conidies rondes, mais on peut cependant voir aussi quelques conidies ovoïdes.

Comportement des monoconidiens H 6

Supposés posséder le noyau de *durum* 9450 $A_1B_2 = 6$, ils ont été confrontés avec :

1) les monospermes *D. durum* 9450 $A_2B_1 = 9$ et $A_2B_1 = 10$ appartenant au pôle complémentaire.

2) avec 6995/A afin de voir s'ils pouvaient reformer un mycélium hybride identique à H 6.

Les 40 confrontations avec *D. durum* et les 20 confrontations avec *D. sordulentum* 6995/A sont restées négatives.

Les monoconidiens H 6 se comportent comme s'ils n'avaient pas le noyau de *durum*, ils doivent donc posséder le noyau de *sordulentum* 6995/A.

5 monoconidiens H 6 ont été confrontés avec les 4 pôles de *D. sordulentum* LY 6627 et avec deux monocaryons LY 6770/A et 6770/B. Les 30 confrontations sont positives entre 1 mois et 2 mois, et le mycélium dicaryotique obtenu se maintient bouclé en subcultures.

Conclusion : les monoconidiens de H 6, se comportent comme ceux de H 4, ils possèdent le noyau de *sordulentum* LY 6995/A naturellement compatible

Source : MNHN, Paris

avec les monospermes d'autres souches de cette espèce.

Mais à l'heure actuelle, contrairement au mycélium H 4, H 6 n'a montré aucune tentative de rebouclage permettant d'affirmer la présence du noyau *D. durum*.

Pour les hybrides étudiés précédemment, le noyau de *durum* ne s'est jamais manifesté dans les confrontations effectuées avec les cultures monoconidiennes mais seulement dans celles faisant intervenir le mycélium hybride lui-même. Pour cette raison le mycélium H 6 débouclé a été confronté avec différents monospermes de *sordulentum* et de *durum*.

Confrontations du mycélium H 6 débouclé avec *D. sordulentum* n° LY 6627 A_1B_1, A_2B_2, A_1B_2, A_2B_1 et LY 6770/A, 6770/B.

Toutes les confrontations, effectuées en double, sont positives au bout de deux mois, mais seuls les monospermes de *sordulentum* sont dicaryotisés, le mycélium H 6 reste dépourvu de boucles. Les cultures ont un aspect homogène avec un mycélium aérien pratiquement nul et un milieu de culture bien bruni.

Confrontations du mycélium H 6 débouclé avec *D. durum*.

– avec 9450 A_1B_1 n° 1 et n° 7 : les confrontations effectuées en double sont positives après 2 à 3 mois; un mycélium aérien se forme, qui, du monosperme 9450, envahit progressivement le territoire de H 6.

– avec 9450 A_2B_2 n° 2, n° 3, n° 5 et n° 8 : les confrontations restent négatives à 7 mois. Quelques boucles ont été observées après 8 mois dans les confrontations avec les n° 5 et n° 8.

– avec 9450 A_2B_1 n° 9 : 1 confrontation sur deux est positive après 5 mois; avec n° 10 : à 4 mois, toutes les confrontations sont négatives, mais après 6 mois, 1 confrontation sur trois se révèle positive et après 8 mois une autre montre des boucles partout.

– avec 9450 A_1B_2 n° 11 : sur 3 confrontations, 1 seule a montré quelques hyphes bouclées après 5 mois; avec n° 6 : 2 confrontations sur 3 se révèlent positives après 2 et 3 mois.

Conclusion : Ces résultats laissent penser que dans le mycélium H 6 débouclé, le noyau de *durum* a disparu et que reste seulement le noyau *D. sordulentum* compatible avec tous les monocaryons des autres souches *D. sordulentum* et susceptible, dans 9 cas sur 23, de refaire des mycéliums dicaryotiques hybrides avec certains monospermes *D. durum*, notamment les n° 1 - 7 - 6 qui ont toujours manifesté la plus grande aptitude à s'hybrider.

Néanmoins, il reste à comprendre pourquoi, s'ils ne possèdent que le noyau de *sordulentum*, les monoconidiens de H 6 forment les deux types de conidies avec parfois une majorité de conidies rondes.

ÉTUDE DE H 5 : 9450 A_1B_2 n° 6 x 6770/A

A partir du mycélium H 5, 80 monoconidiens furent isolés, 79 se sont développés; les cultures monoconidiennes d'aspect opaque, blanchâtre, pratique-

Source : MNHN, Paris

ment dépourvues de mycélium aérien, montrent toutes des conidies ovoïdes rares et leurs hyphes restent sans boucles.

Comportement des monoconidiens de H 5

25 monoconidiens ont été croisés avec :

– le monosperme 9450 A_2B_1 = 9, complémentaire du monosperme *D. durum* entrant dans la formule de H 5

– un monosperme 6995/A appartenant à une autre souche de *D. sordulentum*.

De plus 15 monoconidiens H 5 ont été confrontés avec :

– un monoconidien 6770/13, fraîchement réobtenu à partir du polysperme *D. sordulentum* 6770 et complémentaire de 6770/A.

Les 25 confrontations avec *D. durum* sont restées négatives tandis que les 40 confrontations avec *D. sordulentum* se sont révélées nettement positives. Notons seulement que si la dicaryotisation des monoconidiens H 5 est totale, celle des monocaryons 6995/A et 6770/13 est exceptionnelle.

Ces résultats montrent que c'est encore le noyau *D. sordulentum* qui est obtenu par le biais des dispersions de conidies. Nous avions déjà constaté à plusieurs reprises (LANQUETIN 1973 p. 185) le passage préférentiel dans les conidies d'un seul type de noyau du dicaryon. Ce phénomène reste encore à expliquer.

Pour tenter d'isoler le second noyau du dicaryon H 5, nous avons eu alors recours à l'étude des néohaplontes de H 5.

Étude des néohaplontes de H 5

Après un séjour sur milieu nutritif gélosé additionné d'extrait sec de bile (Merck) à la dose de 1,5 %, le mycélium H 5 apparaît totalement dépourvu de boucles et de mycélium aérien, donc de conidies. Il est broyé en milieu liquide pendant deux minutes et les fragments de mycélium sont dispersés. Dans le premier essai, sur 50 jeunes pousses prélevées, une seule s'est développée, elle était bouclée. Une deuxième tentative a permis 30 prélèvements dont 13 se sont bien développés, un seul montrait des conidies rondes, il s'est bouclé, les 12 autres à conidies ovoïdes sont restées sans boucles. Ils ont été confrontés avec le monosperme *D. durum* 9450 A_2B_1 n° 9 et le monosperme *D. sordulentum* 6627 A_1B_1 n° 2. Toutes les confrontations avec *D. durum* ont été négatives tandis que celles avec *D. sordulentum* étaient positives.

Ces résultats montrent que les néohaplontes possèdent tous le noyau de *sordulentum* comme les monoconidiens.

Comportement du mycélium H 5 confronté en phénomène de Buller

1) avec des monospermes de *D. sordulentum*

	Confrontations observées	
	à 2 mois	à 5 mois
H 5 x 6627 A_1B_1 n° 2	– – – –	– –
H 5 x 6627 A_2B_2 n° 5	– – – qq.+	– – +t
H 5 x 6627 A_2B_1 n° 7	– – – –	– – – –

Source : MNHN, Paris

	Confrontations observées à 2 mois	à 5 mois
H 5 x 6627 A_1B_2 n° 9	– – –	– –
H 5 x 6995/A	– –	– –

Donc une seule confrontation sur 18 se révèle partiellement positive à 2 mois, et sur 14 confrontations di-mon. réobservées à 5 mois, cette même et seule confrontation devient nettement positive jusqu'à l'extrême bord du territoire de l'haplonte. Il s'agit probablement de la formation d'un mycélium hybride dicaryotique 9450 A_1B_2 n° 6 x 6627 A_2B_2 n° 5.

2) avec des monospermes de *D. durum*

	Confrontations observées à 3 mois	à 5 mois
H 5 x 9450 A_2B_1 n° 9	+Fr. +Fr. +Fr. +	+ + + +
H 5 x 9450 A_2B_1 n° 10	– – – –	+ + – –
H 5 x 9450 A_1B_1 n° 1	– –	– –
H 5 x 9450 A_1B_1 n° 7	– – – qq.+	– – – +1 et cr
H 5 x 9450 A_2B_2 n° 3	– – – –	– – – –
H 5 x 9450 A_2B_2 n° 2	– –	+ +
H 5 x 9450 A_2B_2 n° 5	– –	∓ ∓
H 5 x 9450 A_2B_2 n° 8	– –	– ∓ (avec petite zone +)
H 5 x 9450 A_1B_2 n° 11	– – –	n'ont pu être conservées
H 5 x 9450 A_1B_2 n° 6	– +| +t +t	+t +t +t

On comprend les résultats franchement positifs avec le pôle A_2B_1 complémentaire du monosperme *D. durum* ayant formé H 5, mais les résultats obtenus avec les autres pôles sont assez surprenants et appellent quelques commentaires.

– Avec les monospermes A_1B_1 n° 1 et 7 : à trois mois sur 6 confrontations, H 5 a formé une fois seulement, et localement, des boucles et des crochets qui, après 5 mois n'ont toujours pas envahi la culture

– Avec les monospermes A_2B_2, n° 2 - 3 - 5 et 8 : à trois mois, les 10 confrontations sont négatives mais après 5 mois, si les 4 confrontations avec le n° 3 restent négatives, les deux croisements avec le n° 2 sont devenus nettement positifs, tandis qu'avec le n° 5, les deux confrontations montrent seulement une petite zone bouclée d'un aspect différent du reste de la culture; enfin une confrontation sur deux avec le n° 8 montre également une zone bouclée limitée.

– Avec les monospermes A_1B_2 de même pôle que le noyau *D. durum* de H 5 : si toutes les confrontations avec le n° 11 restent négatives, il n'en est pas de même avec le n° 6 (monosperme entrant dans la formule de H 5) une confrontation partiellement positive à 3 mois n'a pu être conservée, 1 autre négative à 3 mois devient nettement positive à 5 mois, enfin deux autres confrontations se sont révélées totalement positives à 3 mois.

Source : MNHN, Paris

– Même avec les monospermes A_2B_1 complémentaires du noyau *D. durum* ayant fôrmé H 5, on observe des irrégularités : le n° 10 n'a été dicaryotisé que 2 fois sur 4 et seulement à 5 mois, le n° 9 par contre donne, à 3 mois, 4 confrontations positives sur 4, 3 portent des fructifications et pour l'une d'elles, les pieds des basides ont pu être vérifiés bouclés. Cette vérification est extrêmement difficile mais nécessaire car le monosperme 9450 n° 9, (comme aussi les n° 11 et n° 8) peut fructifier parthénogénétiquement; il donne des fructifications portant des basides non bouclées à 2 ou le plus souvent 4 stérigmates qui produisent des spores binucléées.

A partir de la fructification bouclée apparue dans le Buller : H 5 x 9450 A_2B_1 n° 9, 30 monospermes isolés ont été vérifiés sans boucles et ensuite confrontés avec les 4 pôles de *D. durum* 9450. L'examen de ces confrontations effectué entre 5 et 7 semaines permet de répartir les monospermes entre les 4 pôles parents.

A_1B_1 : 1 - 5 - 6 - 7 - 11 - 24 - 26
A_1B_2 : 2 - 3 - 4 - 9 - 13 - 14 - 25 - 27 - 28 - 30
A_2B_2 : 8 - 12 - 15 - 16 - 19 - 22 - 23 - 29
A_2B_1 : 18 - 21.

Font exception les n° 10 - 17 - 20. En effet, le n° 10, positif avec A_2B_2, donne des fausses boucles à la fois avec A_1B_1 et A_2B_1. Les n° 17 et 20 donnent des résultats nettement positifs avec A_1B_1 et A_1B_2, mais pour ces deux derniers il pourrait s'agir de «monocaryons impurs» constitués par 2 spores incompatibles ?

Ces premières observations conduisaient à penser que si le noyau *D. durum* de H 5 : 9450 A_1B_2 n° 6 était capable de faire avec 9450 A_2B_1 n° 9, une fructification dont les descendants se comportaient normalement comme les pôles de *D. durum*, ce noyau *D. durum* n'avait donc pas été modifié par son association avec un noyau de *sordulentum*.

Mais les confrontations précédentes, réobservées après 5 mois, ont donné les résultats regroupés dans le Tableau II.

On constate qu'après ce long délai, 17 monospermes sur 30 (ceux qui portent l'astérisque) ont un comportement différent de celui des monocaryons normaux de *D. durum*. Ces résultats permettent d'affirmer que le noyau «*durum*» de H 5 a un comportement anormal. Celui-ci pourrait expliquer les croisements positifs inattendus dans les confrontations di-mon. de H 5 avec les 4 pôles de *D. durum* (y compris le pôle du noyau «*durum*» de H 5 !) et viendrait éclairer les résultats obtenus dans l'étude des fructifications du mycélium H 5 lui-même.

FRUCTIFICATIONS DU MYCÉLIUM HYBRIDE H 5

Avec ce seul mycélium hybride, des fructifications ont été obtenues sur milieu de Nobles dans certaines cultures âgées de 3 mois, et sur bois de hêtre.

Source : MNHN, Paris

Tableau II

Comportement des monospermes, issus de la fructification d'une confrontation en Buller : H 5 x 9450 A_2B_1 n° 9, face aux quatre pôles de *D. durum*.

Behaviour of monosporous cultures obtained from the fructification of a Buller's confrontation : H 5 x 9450 A_2B_1 n° 9, with the four mating types of *D. durum*.

	1	2*	3	4*	5	6	7	8*	9*	10*
A_1B_1 = 1	−	−	−	+ +	−	−	−	+ +	+ +	− +
A_1B_2 = 6	−	−	−	−	−	−	−	− + cr	−	−
A_2B_2 = 5	+ +	+ +	− FB	−	+ +	+ +	+ +	+ +	cr + cr	+ +
A_2B_1 = 9	cr + cr	+ +	+ +	+ +	− +	−	cr cr cr	−	+ +	+ +

	11	12*	13	14	15	16*	17*	18*	19*	20*
A_1B_1 = 1	−	+ +	−	−	+ +	+ +	+ +	− cr	+ +	+ +
A_1B_2 = 6	−	+ +	−	−	−	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
A_2B_2 = 5	+ +	−	+ +	+ +	−	−	−	+ +	−	−
A_2B_1 = 9	− +	+ +	+ +	+ +	−	−	+ +	−	+ +	−

	21*	22*	23*	24*	25*	26	27	28	29*	30
A_1B_1 = 1	− cr	+ +	+ +	+ +	+ +	−	−	−	+ +	−
A_1B_2 = 6	+ +	− FB	−	cr cr cr	+ +	−	−	−	+ +	−
A_2B_2 = 5	+ +	−	+ +	+ +	−	+ +	− +	−	+ +	− +
A_2B_1 = 9	−	+ +	+ +	+ +	+ +	− cr	+ +	+ +	+ +	+ +

Source : MNHN, Paris

par le Dr R. SIEPMANN de Hann - Münden (RFA)*. Ces dernières ayant l'avantage de pouvoir être conservées en herbier.

Toutes ces fructifications sont semblables et apparaissent sous la forme de petites plages isabelle (7,5 YR 7/4 à 7,6)** ou cannelle pâle (7,5 YR 6,5/4); elles sont très visibles sur les cultures H 5 dont le mycélium aérien est blanc pur. Très riches en spores de 5-5,5-(6) µm de diamètre, montrant dans le Melzer, à côté de quelques grosses verrues amyloïdes, un grand nombre de petits ornements d'une grande finesse, ces fructifications H 5 sporulent pendant un temps relativement court par rapport à celui des fructifications de *D. durum* et *D. sordulentum*. Leurs basides bouclées, à 4 stérigmates, sont très allongées (40)-50-65(70) x 5-5,5 µm, leur base est extrêmement grêle ce qui rend très difficile l'observation de la boucle basale. Agées, elles se vident laissant 3 ou 4 cloisons de retrait. Les sulfocystides, (40)-55-65 x 5 µm, montrent parfois une schizopapille au sommet; leur contenu peut apparaître comme une grosse masse réfringente, leur base bouclée est facile à observer. Les dichophyses ont une hauteur totale de (30)-40-70-(90) µm et une envergure de (30)-40-55-(80)µm; ces tailles sont intermédiaires entre celles de *D. durum* et de *D. sordulentum* (cf. BOIDIN et LANQUETIN 1980). Les spores sont en très grande majorité binucléées avec quelques spores à un noyau. Les hyphes génératrices, hyalines, sont bouclées et binucléées.

Étude des monospermes de H 5

A partir de la sporée produite par la 1ère fructification de H 5 (septembre 1980), 80 monospermes ont été obtenus. A l'âge de 15 jours à 3 semaines, ils sont tous formés d'hyphes sans boucles et produisent des conidies rondes, type

* R. SIEPMANN bien connu pour sa compétence en matière de fructification sur bois, a bien voulu faire des essais avec tous nos mycéliums hybrides, mais comme dans les cultures, seul le mycélium H 5 a fructifié.

** Code de la Munsell Color Company, Baltimore, U.S.A. «Munsell soil color charts», 1954.

Légende du Tableau II

+ : boucles constantes; ∓ : boucles nombreuses localement; cr : crochets; FB : fausses boucles.

Quand figurent 3 signes pour une confrontation : les signes du milieu, du haut et du bas correspondent à l'observation de prélèvements effectués respectivement sur la ligne de contact, sur le territoire du monosperme de la colonne verticale et sur le territoire du monosperme de la colonne horizontale.

+: constant clamp connections; ∓ : numerous clamps locally; cr : incomplete clamps; FB : false clamps.

When three results are indicated for a confrontation the one in the middle is that obtained for the contact zone, the one in the upper right hand corner is that for the monosporous culture indicated in the vertical column and the one in the lower left hand corner is that for the other monosporous culture of the confrontation which is listed to the left of the table.

Source : MNHN, Paris

D. durum, de diamètre 3-(3,5-4) µm. L'étude cytologique de 5 d'entre eux révèle que leurs hyphes sont constitués en majorité d'articles uninucléés avec quelques terminaux montrant 2-3-(5) noyaux. Des conidiophores plurinucléés portent des conidies uninucléées qui germent en donnant des hyphes sans boucles aux articles uninucléés ou très faiblement cénocytiques.

Dix monospermes ont été appariés deux à deux pour établir leur polarité, un mois plus tard toutes les confrontations étaient positives.

Les 80 cultures monospermes réobservées, alors âgées de deux mois, présentent pour la plupart des boucles, au moins localement mais une vingtaine se montrent totalement dépourvues de boucles ou de crochets. Des observations ultérieures, sur lames gélosées, ont permis de voir qu'elles aussi bouclaient lentement. En outre, les 5 monospermes dont les noyaux avaient été colorés, sont maintenant totalement binucléés-bouclés.

30 monospermes isolés à partir de la 2ème fructification H 5, 30 monospermes de la 3ème fructification H 5 et 10 monospermes obtenus à partir de la fructification sur bois (laquelle a très peu sporulé après son transport à Lyon) ont conduit aux mêmes résultats. Les cultures monospermes âgées de 1 mois sont totalement dépourvues de boucles ou de crochets qui apparaissent après un délai plus ou moins long, le plus souvent de deux mois.

Les descendants de l'hybride H 5 ont donc un comportement homothalle qui diffère totalement de l'hétérothallie tétrapolaire des deux espèces ayant formé l'hybride.

L'observation répétée des 150 monospermes de H 5, dont 50 ont été étudiés sur lame gélosée, permet de dire qu'en très grande majorité ils produisent des conidies rondes. 5 seulement, dont le n° 2, ont montré les deux types de conidies.

Étude des monoconidiens du monosperme H 5 n° 2

Ce monosperme bouclé (comme les autres) semble bien posséder les deux types de conidies avec une nette dominante de conidies rondes. Après dispersion de ces conidies, 60 prélèvements sont effectués sur 6 jours. L'examen des monoconidiens montre déjà la présence de crochets dans certaines cultures âgées de 15 jours. Ensuite 18 cultures seront bouclées à un mois, 30 à 1 mois et demi, et les autres boucleront plus tardivement, souvent incomplètement et apres plusieurs repiquages.

Bien qu'uninucléées, les conidies des monospermes donnent des cultures dont le comportement répète celui des monospermes, c'est-à-dire que le noyau unique peut donner naissance à un dicaryon.

Il faut rappeler que la culture de *D. rhodosporum* (Wakef.) Cunn. reçue de Warcup (n° T 433 originaire du sol en Australie) avait ce même comportement. Les cultures monoconidiennes ne permettaient pas d'isoler des cultures monocaryotiques nécessaires aux intercompatibilités (LANQUETIN 1973), car elles se bouclaient lentement. Toutefois la fructification en milieu stérile de T 433 permit d'obtenir des monospermes monocaryotiques et d'établir la tétrapolarité

Source : MNHN, Paris

de ce *Dichostereum*. On pouvait se demander s'il en serait de même ici.

Étude de la croissance des monospermes issus de H 5

9 monospermes mis sur milieu de Nobles à 24°C, remplissent les boîtes en 5 ou 6 semaines comme H 5.

Aspect : le mycélium aérien est blanc pur, finement pelucheux avec quelques zones subfeutrées de mycélium plus dense, ou grumeleuses légèrement teintées de crème pâle. Le mycélium ne cache pas totalement le milieu.

Microscopie : le mycélium aérien est formé d'hyphes régulières, étroites, de 1,2-2 µm, à paroi mince, bouclées. Les conidiophores sont en majorité à conidies sphériques mais il y a parfois des conidies ovoïdes. Les plages qui présentent du mycélium aérien montrent quelquefois de grands secteurs où les hyphes sont dépourvues de boucles et ne possèdent pas de dichophyses. Par contre, les plages lisses, pratiquement dépourvues de mycélium aérien, ont des hyphes de 1,5-2 µm, régulières, à boucles constantes, quelques chlamydospores, des sulfocystides et quelques fibres congophiles, dichophytiques, grêles, souples, ⩽ 1 µm. Les gloeocystides, 43-65 x 1,5-2 µm, possèdent généralement 3 à 5 papilles. Le mycélium submergé est formé d'hyphes de 1,5-4 µm, bouclées; cependant bien des boucles semblent mal fermées.

Oxydases : les monospermes testés ont tous une forte réaction positive sur milieu à l'acide gallique (+++++, O: comme sur gaïacol +++++, tr. et une réaction négative sur paracrésol et tyrosine.

Étude des fructifications des descendants issus de H 5

Plusieurs cultures monospermes issues de H 5 ont à leur tour fructifié à l'âge de 3 mois. Elles ont donné :

– ***une fructification sans boucles*** :

descendant n° 3 : sa fructification ne donne pas de sporée visible dans le couvercle, mais contient de nombreuses spores faiblement ornées, de grosses gloeocystides, 80 x 9-10-(11) µm, avec masse subsolidifiée, des dichophyses hautes de 100 µm. Quelques basides à 4 stérigmates, et dont le pied a pu être dégagé, sont dépourvues de boucles.

– ***des fructifications montrant quelques boucles sur certaines dichophyses***

descendant n° 6 : la fructification ne donne pas de sporée dans le couvercle et montre peu de basides et peu de spores. Il a été impossible de voir le pied d'une baside avec certitude (même après traitement ammoniacal à 60°C). Beaucoup de dichophyses semblent dépourvues de boucles à la base mais dans quelques cas une boucle a été observée avec certitude.

descendant n° 8 : il a fructifié dans deux boîtes de Pétri sur milieu de Nobles. Les fructifications donnent dans le couvercle une faible sporée qui montre des spores ornées, de 4,5-5 µm de diamètre. En coupe, sont observées : 1) de très nombreuses, longues et grêles basides tétrasporiques, 60-85 x 4,5-5 µm au sommet, à base très étroite, de 1,75 µm, sans boucles. 2) des gloeocystides longue-

Source : MNHN, Paris

ment fusiformes avec papille sommitale mesurant 90 x 8–9 µm au renflement et d'autres obtuses, dépourvues de papille, 60-80 x 8-9 µm, ayant un contenu solidifié et une paroi un peu ferme. 3) des dichophyses à base généralement non bouclée, toutefois dans de rares cas, une boucle a été observée avec certitude.

Les hyphes mycéliennes sous-jacentes, reconnaissables à leurs gloeocystides multipapillées sont bouclées.

— ***une fructification bouclée :***

descendant n° 7 : bien que montrant de grandes plages aux hyphes régulières sans boucles au cours de l'étude de la vitesse de croissance, il a donné une petite fructification qui a produit une légère sporée recueillie sur une lamelle stérile. Observée à un stade jeune, cette fructification a pu être bien dilacérée, les basidioles nombreuses, sont bouclées, les basides tétrasporiques, 55-80 x 4,5-5 µm, ont une base indiscutablement bouclée, les gloeocystides ont leur cloison basale bouclée et possèdent une papille au sommet; les dichophyses ont également une boucle à leur base. Les hyphes mycéliennes sont à boucles constantes.

Étude des descendants des fructifications des monospermes 7 et 8 de H 5

Les sporées obtenues ont permis d'isoler les monospermes des fructifications de deux types : à boucles limitées à quelques dichophyses (n° 8) et à boucles constantes (n° 7).

Descendants de la fructification du monosperme n° 8 de H 5

68 germinations sont prélevées deux jours après la dispersion des spores, 3 semaines plus tard toutes se sont bien développées et 30 d'entre elles présentent des boucles ou des crochets. Les 38 autres sont repiquées et bouclent progressivement.

Descendants de la fructification bouclée du monosperme n° 7 issu de H 5

50 germinations ont été isolées 3 jours après la dispersion des spores. Toutes se sont bouclées plus ou moins rapidement et après plusieurs repiquages.

Dans les deux cas les cultures monospermes bouclent peu à peu. L'homothallie apparue lors de la 1ère fructification de l'hybride H 5 se maintient après les fructifications de la génération suivante.

DISCUSSIONS

Des mycéliums hybrides interspécifiques stables et instables ont été plusieurs fois obtenus, par exemple par NOBLES et FREW (1962) avec des *Pycnoporus*, EDWARDS et KENNEDY (1973) avec des *Coriolus*, DAVID et coll. (1974) avec des *Auriporia*, BRUEHL et coll. (1975) avec des *Typhula*, BOIDIN et LANQUETIN (1977 b) avec des *Peniophora*, et KORHONEN (1978) avec deux espèces jumelles S et T de *Heterobasidion* supra-species *annosum*.

Source : MNHN, Paris

Nous avons voulu dans ce travail poursuivre l'étude de ces mycéliums hybrides car *Dichostereum durum* et *D. sordulentum* présentent l'avantage de former des conidies uninucléées sur leurs dicaryontes et de plus, la fructification de ces deux espèces ayant été obtenue au laboratoire, nous pouvions espérer celle des mycéliums hybrides. Pour les six mycéliums hybrides H 1 à H 6, nous avons ci-dessus présenté successivement les résultats détaillés obtenus :

I : par isolement de monoconidiens monocaryotiques et leurs croisements,
II : par confrontation di-mon. entre le mycélium hybride et les monocaryons des espèces parentes.

I - ISOLEMENT DE MONOCONIDIENS MONOCARYOTIQUES

LANQUETIN (1973) a tenté 5 fois d'obtenir des monoconidiens de pôles complémentaires à partir de dicaryons de plusieurs *Dichostereum*. Deux fois elle n'a obtenu qu'un seul pôle (avec 40 monoconidiens de *D. granulosum* et 45 de *D. ramulosum*) mais pour les trois autres cas, deux pôles ont été obtenus dans des proportions très variables (1 et 20 avec *D. rhodosporum*, 13 et 87 avec *D. ramulosum*, 16 et 24 avec *D. granulosum*).

Les monoconidiens de H 1, H 2, H 3, H 5 ont tous toujours été compatibles avec *D. sordulentum*, soit avec le pôle complémentaire de celui présent dans l'hybride lorsque nous le possédions, soit avec les monocaryons de deux autres récoltes géographiquement éloignées. Le noyau de *sordulentum* est donc présent dans les hybrides et aisément isolé lors de la conidiation.

Les néohaplontes de H 5, obtenus sur milieu à la bile, révèlent ce même noyau de *sordulentum*. De même, la culture hybride H 6 débouclée naturellement comme les monoconidiens qui en proviennent sont compatibles avec les monocaryons de *D. sordulentum*.

La culture hybride H 4, instable et redevenue sans boucles forme des conidies de type *D. durum* mais cependant tous les monoconidiens isolés à partir de cette culture possèdent comme ci-dessus un noyau de *sordulentum*.

S'il est possible d'espérer obtenir les deux types de mycélium monocaryotiques par dispersion de conidies formées sur un mycélium dicaryotique, le fait de n'obtenir ici qu'un des deux noyaux supposés présents pourrait être dû :

a) à la mauvaise germination des conidies du type *D. durum* ou à la mortalité des jeunes monoconidiens de ce type. En effet, 40 jeunes germinations de conidies de H 1 observées en place, n'ont pas poursuivi leur développement. Par ailleurs, les prélèvements ont permis d'obtenir avec H 1 : 86 cultures sur 200 prélèvements, avec H 2 : 29 sur 40 puis 61 sur 67, avec H 3 : 27 sur 50, mais avec H 5 : 79 sur 80.

b) à la montée exclusive d'un des noyaux dans les conidies, comme l'a déjà observé KORHONEN (1978) sur 99 monoconidiens isolés d'un mycélium dicaryotique hybride (de *Heterobasidion* supra sp. *annosum* espèces P et S) qui possédaient tous le même noyau.

Source : MNHN, Paris

II - UTILISATION DU PHÉNOMENE DE BULLER

N'ayant pu prouver par l'isolement de monoconidiens la présence des noyaux des deux partenaires, on pouvait espérer y parvenir par des confrontations di-mon. entre le mycélium hybride et les monocaryons des espèces parentes. Le noyau de *durum* supposé présent dans l'hybride dicaryotiserait les mycéliums *D. durum* haploïdes de pôle complémentaire; de même pour le noyau de *sordulentum*.

En fait, les mycéliums hybrides stables H 1 - H 2 - H 3 - H 5 et le mycélium H 4 stabilisé, ne dicaryotisent pas ou très rarement et alors très mal et très tard, les monocaryons de *D. sordulentum*. Par contre, ils dicaryotisent rapidement les monocaryons de *D. durum* complémentaires du noyau de *durum* qu'ils possèdent. Ce qui laisserait entendre que le noyau *D. durum* cohabite bien avec le noyau de *sordulentum* dont l'existence a été prouvée par le biais des monoconidiens mais qui ne se manifeste pas ici. En outre, les mycéliums hybrides dicaryotisent plus ou moins bien d'autres pôles de *durum* y compris parfois le pôle de *durum* qu'ils contiennent :

Par exemple : H 2 (*durum* 9450 A_1B_1 x *sordulentum* 6627 A_1B_2) dicaryotise rapidement 9450 A_2B_2 et plus tardivement parfois seulement localement 9450 A_2B_1 et A_1B_2. H 5 (*durum* 9450 A_1B_2 n° 6 x *sordulentum* 6770/A) dicaryotise rapidement le monosperme 9450 A_2B_1 n° 9 et très lentement certains monospermes 9450 A_1B_1, A_2B_2. En outre deux fois sur quatre il dicaryotise assez rapidement A_1B_2 n° 6 !

Deux hypothèses peuvent être formulées :

1) les mycéliums hybrides donnent bien à l'haplonte *D. durum* un noyau de *durum* mais un noyau modifié dont les facteurs de polarité ont perdu partiellement leur rôle.

2) des mycéliums hybrides se reconstituent en appariements di-mon. grâce au transfert du noyau de *sordulentum* dans divers haplontes *D. durum*. On peut alors s'étonner :

a) que la formation d'hybrides soit beaucoup plus facile et fréquente en appariements di-mon. qu'entre monocaryons. Par exemple dans les appariements di-mon. avec H 5, le noyau de *sordulentum* 6770/A donnerait des hybrides avec 9450 A_2B_2 n° 2, n° 5 et n° 8 qui n'ont jamais formé d'hybrides dans les croisements entre monocaryons. De même dans les appariements di-mon. avec H 3, le noyau de *sordulentum* 6627 A_1B_2 n° 9 formerait un hybride avec 9450 A_1B_2 n° 11, ce qui n'a jamais été obtenu par le croisement de ces deux monocaryons.

b) que le noyau *D. sordulentum* de l'hybride qui dicaryotiserait ici aisément *D. durum*, ne dicaryotise pratiquement pas les monocaryons *D. sordulentum* complémentaires.

Il est difficile de choisir actuellement entre ces deux hypothèses, le seul fait que H 5 dicaryotise A_1B_2 n° 6 qu'il contient, mais pas son homologue A_1B_2 n° 11, laisserait supposer que le noyau *D. sordulentum* de H 5 refait un mycé-

Source : MNHN, Paris

lium hybride avec le même partenaire (hypothèse 2). Toutefois la première hypothèse peut être appuyée par le fait que l'hybride H 5 qui contient 9450 $A_1 B_2$ a donné un mycélium fructifère avec 9450 $A_2 B_1$ n° 9 son complémentaire; que la descendance s'est révélée normale (tétrapolaire) après 5 à 7 semaines mais a donné ensuite à 5 mois, pour plus de 50 % des monocaryons utilisés, des résultats positifs avec plusieurs pôles (cf. tableau II) ce qui pourrait être dû à la modification des gènes de polarité supposée dans cette hypothèse 1. Seule l'utilisation de mutants auxotrophes permettrait d'approfondir encore cette étude.

Ces résultats confirment cependant que *D. durum* et *D. sordulentum* sont des espèces distinctes pratiquement isolées génétiquement même dans les conditions «forcées» du laboratoire.

Le mycélium hybride H 5, qui se comporte comme les autres mycéliums hybrides stables, a en outre fructifié plusieurs fois. Des boucles ont été vues au pied des basides et nous avons là un des tout premiers cas, si ce n'est le premier, de fructification d'un hybride interspécifique chez les Basidiomycètes saprophytes. Le basidiome montre des dichophyses de taille intermédiaire entre celles des deux parents et des basides à 4 spores binucléées. Les 150 isolements monospores montrent des conidies de type *D. durum* et sont d'abord sans boucles, mais après 7 à 8 semaines, les boucles sont présentes dans toutes ces cultures. Le comportement ici homothalle lent n'est ni celui de *D. durum*, ni celui de *D. sordulentum*.

Les monoconidiens issus des cultures monospermes sont comme eux bouclés après quelques semaines. Les fructifications de quelques cultures monospermes qui sont soit à basides bouclées, soit à basides sans boucles, donnent à leur tour des monospermes qui se bouclent lentement.

On constate que le dérèglement provoqué par l'hybridation ne se corrige pas à la deuxième génération.

* * *

The genus *Dichostereum* Pilat sensu BOIDIN et LANQUETIN (1977) contains heterothallic tetrapolar species which are easily cultivated and produce uninucleate conidia on the secondary mycelium. These conidia facilitate easy isolation of one of the nuclei of the dikaryon (i. e. monokaryotic monoconidial mycelia) but as previously shown (LANQUETIN 1973) two types of compatible monokaryons can be obtained in very unequal proportions.

The eight species, cultivated up to now, have revealed on the whole a complete interincompatibility. These results have clarified the discussed systematics of this genus.

We reported (BOIDIN et LANQUETIN 1980) that the American *Dichostereum sordulentum* (= *Vararia* aff. *dura* in LANQUETIN 1973) gave few clamped hybrid mycelia when paired with the French *Dichostereum durum*. The study of hybrid mycelia *D. sordulentum* x *D. durum* is presented in detail in this paper.

Source : MNHN, Paris

D. durum produces spherical conidia and is tyrosinase negative, while *D. sordulentum* produces ovoid conidia and is tyrosinase positive. Both species fructify quite easily in the laboratory on a nutrient medium (Malt and Difco Agar) but they may loose this property after some years.

Hybrid mycelia grow twice as slowly than their parents and are tyrosinase negative. they produce the two types of conidia (on the same mycelium) even though the one type very often clearly dominates.

H 1, H 2, H 3 and H 5 are stable hybrid mycelia; H 4 and H 6 loose their clamps. For the six hybrid mycelia, we have given detailed results obtained by :

I : isolation of monoconidial monokaryotic mycelia and their matings.

II : di-mon. confrontations between the hybrid mycelium and monokaryotic mycelia of the two parent species.

I - ISOLATION OF MONOCONIDIAL MONOKARIOTIC MYCELIA

Monoconidial mycelia of H 1, H 2, H 3 and H 5 are always intercompatible with *D. sordulentum* either with the compatible pole of the one present in the hybrid mycelium when available or with monokaryotic mycelia of two other collections geographically distant. The nucleus of *sordulentum* is therefore present in hybrid mycelia and easily isolated at the time of conidiation.

Neohaploid mycelia of H 5, obtained on oxgall medium possess the same nucleus that of *sordulentum*. In the same way, the hybrid culture H 6 having naturally lost its clamps-connections, and the monoconidial mycelia originating from this unclamped mycelium H 6, are compatible with the monokaryotic mycelia of *D. sordulentum*. The instable hybrid culture H 4, became clampless, produced conidia of the same type as those of *D. durum* but nevertheless all monoconidial mycelia isolated possessed one nucleus of *sordulentum*.

It is hoped to obtain the two types of monokaryotic monoconidial mycelia by dispersion of conidia borne by the secondary mycelium. The fact that we only obtained one of the two nuclei, supposedly present, could be due to :

a) poor germination of the *durum* type of conidia or the high death rate of young monoconidial mycelia of this type.

b) the exclusive migration of one single nucleus into the conidia, as already observed by KORHONEN (1978) with 99 monoconidial cultures (isolated from the dikaryotic hybrid mycelium of *Heterobasidion* supra species *annosum* species S and T) which all possessed the same nucleus.

II - USE OF BULLER'S PHENOMENON

As the presence of the nuclei of the two partners in the hybrid mycelium has not been proved by studying monoconidial isolates we have tried to demonstrate it by means of di-mon. confrontations between the dikaryotic hybrid mycelium and monokaryotic mycelia of the parent species. In this case the «*durum*» nucleus of the hybrid would dikaryotize the haploid mycelia of *D.*

Source : MNHN, Paris

durum having a compatible pole, and the «*sordulentum*» nucleus would do the same thing.

In fact the stable hybrid mycelia H 1, H 2, H 3, H 5 and the stabilized hybrid H 4, do not dikaryotize the monokaryotic mycelia of *D. sordulentum* or else very rarely and then, imperfectly and very late. On the other hand, they dikaryotize quite quickly the monokaryotic mycelia *D. durum* compatible with the nucleus that they contain.

These results suggest that the nucleus of *durum* effectively cohabits with the nucleus of *sordulentum* the presence of which has been proved by means of monoconidial cultures but which is not revealed here by di-mon. confrontations. In addition the hybrid mycelia dikaryotize more or less, some other poles of *D. durum* including sometimes the same one that they contain themselves.

For example, H 2 (*D. durum* 9450 A_1B_1 n° 1 x *D. sordulentum* 6627 A_1B_2) dikaryotizes quickly 9450 A_2B_2 and later, sometimes only localy, 9450 A_2B_1 and A_1B_2; H 5 (*D. durum* 9450 A_1B_2 n° 6 x *D. sordulentum* 6770/A) dikaryotizes 9450 A_1B_2 n° 9 very quickly and some monosporous cultures 9450 A_1B_1 and A_2B_2 very slowly. But it also dikaryotizes A_1B_2 n° 6 two times out of four rather quickly.

Two hypotheses can be formulated :

1) the hybrid mycelia give to the monokaryotic mycelia of «*durum*» a «*durum*» nucleus but a «modified» nucleus whose factors of polarity have partially lost their fonction.

2) the hybrid mycelia are formed again in di-mon. confrontations due to a transfer of a nucleus of *sordulentum* to various haploid mycelia of *D. durum*.

Considering to the second hypothesis it is surprising that :

a) formation of hybrid mycelia occurs more easily and more frequently in di-mon. matings than between monokaryotic mycelia. For instance : in di-mon. matings with H 5 the nucleus of *sordulentum* 6770/A would give hybrid mycelia with 9450 A_2B_2 n° 2, n° 5 and n° 8, that never formed hybrid mycelia in matings between monokaryotic mycelia.

b) the «*sordulentum*» nucleus of one hybrid mycelium which here would easily dikaryotize a nucleus of *D. durum* hardly ever produces dikaryons with the compatible monokaryotic mycelia of *D. sordulentum*.

At the moment, it is difficult to choose between these two hypotheses. However the first one can be supported by the fact that the hybrid mycelium H 5 containing 9450 A_1B_2 formed a fructification in culture with its compatible pole 9450 A_2B_1 n° 9 and that the progeny showed, after 5 or 7 weeks, normal tetrapolar behaviour, but after 5 months, more than 50 % of the monokaryotic mycelia used were giving positive results with different poles (cf. Table II). This could be due to the modification of polarity genes as suggested in hypothesis n° 1.

All these results confirms that *D. durum* and *D. sordulentum* are two distinct species which are almost completely genetically distinct even under the «forced» conditions of the laboratory.

Source : MNHN, Paris

The hybrid mycelium H 5 which behaves as other stable hybrid mycelia, has produced fructifications several times. Clamps have been observed at the base of the basidia and here we can see one of the first cases, if not the first, of fructification of an interspecific hybrid in the saprophytic Basidiomycetes. The fruit-bodies H 5 show dichophyses of a size intermediate between those of two parents and basidia bearing four binucleate spores.

The 150 monosporous cultures observed produce conidia of «*durum*» type and were at first without clamp-connections but after 7 or 8 weeks, clamps were present in all these cultures. This slow homothallic behaviour corresponds neither to that of *D. durum* nor that *D. sordulentum*.

Monoconidial cultures originating from monosporous cultures were, similarly clamped after some weeks. Fruit-bodies of some monosporous cultures have either clamped basidia or unclamped basidia, but they also produce monosporous cultures where clamp-connections always appear slowly. Finally we can say that this irregular sexual behaviour caused by hybridation is not corrected at the time of the second generation.

REMERCIEMENTS

Pour l'envoi de spécimens ou de cultures sans lesquels ce travail n'aurait pu être effectué, nos remerciements s'adressent à A. DAVID, M. DUVERGER et F. LOMBARD. Nous exprimons notre sincère gratitude au Dr R. SIEPMANN de Hann-Münden, RFA qui a bien voulu, à notre demande, essayer d'obtenir sur bois la fructification de nos mycéliums hybrides.

BIBLIOGRAPHIE

BOIDIN J. & LANQUETIN P., 1977 a - Les genres *Dichostereum* et *Vararia* en Guadeloupe (Basidiomycètes Lachnocladiaceae). *Mycotaxon* 6 : 277-336.

BOIDIN J. & LANQUETIN P., 1977 b - *Peniophora* (subg. *Duportella*) *malençonii* nov. sp. (Basidiomycètes Corticiaceae), espèce méditerranéenne partiellement interstérile avec son vicariant californien. *Rev. de Mycol.* 41 : 119-128.

BRUEHL G.W., MACHTMES R. et KIYOMOTO R., 1975 - Taxonomic relationships among *Typhula* as revealed by mating experiments. *Phytopath.* 65 : 1108-1114.

DAVID A., TORTIC M. et JELIC M., 1974 - Étude comparative de deux espèces d'*Auriporia*, *A. aurea* (Peck.) Ryv. espèce américaine et *A. aurulenta* nouvelle espèce européenne. Compatibilité partielle de leur mycélium. *Bull. Soc. Mycol. France*, 90 : 359-370.

EDWARDS R. et KENNEDY L.L., 1973 - Biosystematics of *Coriolus hirsutus and C. pubescens*. I - Interfertility studies. *Can. J. Bot.* 51 : 2385-2393.

KORHONEN K., 1978 - Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Comm. Inst. Forest. Fenn.* 94 : 1-25.

LANQUETIN P., 1973 - Utilisation des cultures dans la systématique des *Vararia* Karst. subg. *Dichostereum* (Pilat) Boid. (Basidiomycètes Lachnocladiaceae). *Bull. Soc. Linn. Lyon*, 42 : 167-192.

NOBLES M.K. et FREW B.P., 1962 - Studies in wood-inhabiting Hymenomycetes. V. The genus *Pycnoporus* Karst. *Can. J. Bot.* 40 : 987-1016.

Source : MNHN, Paris

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

STOLK A.C. et SAMSON R.A., 1983 — The ascomycete genus *Eupenicillium* and related *Penicillium* anamorphs. St. in Mycol. n° 23, C.B.S. Baarn. 149 p. 45 hfl.

La monographie du genre *Eupenicillium* ici présentée s'inscrit dans une série de travaux consacrés aux formes ascosporées associées à certains *Penicillium*, poursuivis depuis de nombreuses années au C.B.S. sous l'impulsion de A. STOLK. Elle fait suite aux publications de STOLK et de SCOTT (1967, 1968) dont elle présente une version révisée, affinée en fonction d'observations soutenues, confrontées aux propositions d'autres chercheurs (PITT, 1980; RAMIREZ, 1982).

Le genre *Eupenicillium*, qui recouvre une partie seulement des «*Penicillium* ascosporés», est défini essentiellement par la nature sclérotioïde des fructifications ascosporées, à maturation progressive. Dans un chapitre préliminaire sont précisées d'abord la typification et la délimitation du genre. Les caractéristiques morphologiques et morphogénétiques des deux types de structures sporogènes sont décrites avec soin : la téléomorphe (structure et forme du corps fructifère, mode de développement de l'asque, caractères de l'ascospore) et l'anamorphe, extrêmement diversifiée; ses différents aspects se répartissent dans plusieurs groupes du genre *Penicillium*, qui se distinguent à la fois par le degré de complexité de l'appareil conidien et par la forme de la phialide.

STOLK et SAMSON retiennent 23 espèces et variétés d'Ascomycètes répondant à ces critères. Ils ajoutent à leur étude 10 espèces de *Penicillium* à sclérotes, non ascosporés, mais sans doute apparentés aux formes homologues sexuées; cette extension est justifiée par le fait que, au cours d'examens récents, la téléomorphe *Eupenicillium* a été mise en évidence chez des espèces sclérotioïdes de *Penicillium* réputées imparfaites.

Dans ce genre où les caractères morphologiques du cleistothèce et des ascospores sont relativement homogènes, la délimitation des espèces est fondée, par une démarche classique, sur la conformation des appareils conidiens. Les auteurs reconnaissent que la structure des hyphes ascogènes est un caractère plus significatif; mais son observation est difficile et, pour des raisons de commodité, elle n'est pas prise en compte dans le découpage du genre en sections.

Les auteurs groupent autour d'*E. javanicum* les quelques espèces et variétés (section *Javanica*) dont les ascospores sont dépourvues de crêtes équatoriales; la forme particulière des phialides invite à en rapprocher le *Penicillium ochrochloron* asexué.

Toutes les autres espèces présentent des ascospores lenticulaires à crêtes bien marquées; elles sont réparties en trois sections : *Pinetorum*, *Lapidosa*, *Eupenicillium*, selon la forme, la pigmentation, et l'ornementation des conidies, la forme des phialides et la morphologie des conidiophores, simples ou ramifiés. Ainsi la section *Eupenicillium*, représentative du genre, comporte sept espèces à conidiophores complexes, une ou deux fois ramifiés sous les métules, à conidies claires

Source : MNHN, Paris

et lisses produites par des phialides cylindriques pourvues d'un col court; cette configuration (*Divaricata* de RAPER et THOM) se retrouve chez cinq espèces de *Penicillium* à sclérotes qui sont traitées dans la même section.

Cette nouvelle présentation des *Penicillium* ascosporés n'est pas de nature à déconcerter les familiers du bon vieux Manual of the Penicillia de RAPER et THOM (1949) : mêmes milieux de culture, mêmes critères d'identification, même mode de description. La relation privilégiée entre cleistothèces massifs ou sclérotes et tels types d'appareil conidien n'est pas nouvelle : les espèces décrites s'inscriraient normalement parmi les «espèces ascosporées» et «espèces à sclérotes» des sections Monoverticillata et Divaricata du Manuel. Les progrès accomplis depuis plus de trente ans se traduisent par des descriptions plus fines, une terminologie plus précise, une illustration séduisante (conidies et ascospores en MEB); mais aussi par l'augmentation notable du nombre des espèces ascosporées, assortie d'ailleurs de nombreuses mises en synonymie parmi les anamorphes.

Les difficultés - et sans doute les critiques - sont de l'ordre de la nomenclature, qui s'écarte en bien des points, non seulement des propositions récentes d'autres chercheurs, mais aussi de ce qu'ont publié antérieurement les auteurs; le tableau comparatif des dénominations spécifiques selon PITT et selon le présent ouvrage illustre cette constatation. Il faut d'ailleurs reconnaître que les listes de synonymes sont exhaustives et les discussions taxonomiques suffisamment précises pour que chacun puisse aisément établir la Synopse des différentes monographies qui lui sont proposées.

Il reste qu'on accepte avec réticence l'assimilation des anamorphes de certains *Eupenicillium* avec des espèces de *Penicillium* connues sous leur seule forme conidienne : ainsi *P. velutinum* serait l'anamorphe d'*E. stolkiae*, *P. simplissimum* celle d'*E. javanicum*, etc.; les termes de «similar», «agrees well», «identical», qui appuient ces propositions ne sont pas absolument satisfaisants, alors qu'il s'agit d'exprimer les étapes du cycle d'un ascomycète par ailleurs bien défini. Sans méconnaître les tendances actuelles de la systématique en vue de retrouver, sous la diversité des expressions morphologiques, l'identité d'organismes à cycle complexe (l'holomorphe déguisée sous la téléomorphe ou les anamorphes), il demeure, très probablement, que dans la pratique du laboratoire, un *Penicillium* est un *Penicillium*, et un *Eupenicillium* reste un *Penicillium* ascosporé.

C'est pourquoi on souhaiterait vivement que soient réunis en un seul ouvrage les travaux des équipes du C.B.S. sur les *Eupenicillium*, les *Talaromyces*, et les *Penicillium* «imparfaits» dont plusieurs groupes ont déjà été révisés par leurs soins. Nul doute qu'il soit accueilli avec satisfaction, comme «la» monographie moderne, dans la ligne d'une longue et fructueuse tradition, propre à satisfaire à la fois l'esprit des chercheurs et la pratique du laboratoire.

Jacqueline Nicot

Source : MNHN, Paris

TABLES DU TOME 4 — 1983

ALBERTINI L. — voir SY A.A.
ALESSIO C.L. — *Inocybe pseudograta* nov. sp. 55
BARRASA J.M. & MORENO G. — Adiciones al género *Pyxidiophora* (Pyrenomycetes) 251
BARRAULT G. — voir SY A.A.
BERTAULT R. — *Cortinarius herculoides* nov. sp. 51
BERTHELAY S. — voir GUILLAUMIN J.J.
BHAT D.J. — voir SUBRAMANIAN C.V.
BIGELOW H.E. — Some clampless species of *Clitocybe*. 93
BOIDIN J., LANQUETIN P. & GILLES G. — *Columnocystis africana* sp. nov. (Basidiomycetes, Aphyllophorales) 129
BOIDIN J. — voir LANQUETIN P.
BOISSELIER-DUBAYLE M.C. — Polymorphisme enzymatique chez *Pleurotus ferulae* et *Pleurotus nebrodensis* 321
BON M. — Écologie des Macromycètes dans le Sud-Amiénois 207
van BRUMMELEN J. — Some observations on the variability of *Tricharina gilva* (Boud. apud Cooke) Eckbl. 165
CANDOUSSAU F. — Récoltes de *Xylaria* du groupe *arbuscula - apiculata* dans le Sud de la France et le Pays Basque espagnol 173
CHANDRA A. — voir WATLING R.
CLÉMENÇON H. — Le revêtement piléique dans le genre *Lyophyllum* 117
DAVID A. — voir GLUCHOFF-FIASSON K.
DEMOULIN V. — Un site remarquable pour ses Gastéromycètes : les grès rouges permiens du nord du massif des Maures (Var, France) 9
DEQUATRE B. — voir GLUCHOFF-FIASSON K.
GAMS W. & SÖDERSTRÖM B.E. — *Oidiodendron scytaloides* n. sp. 239
GILLES G. — voir BOIDIN J.
GLUCHOFF-FIASSON K., DAVID A. & DEQUATRE B. — Contribution à l'étude des affinités entre *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bres. et les *Bondarzewiaceae* . . 135
GOURBIERE F. — Utilisation de sucres et de polyols par la mycoflore d'*Abies alba* Mill. 3. Champignons du sol (fin) 261
GUILLAUMIN J.J., BERTHELAY S. & SAVIN V. — Étude de la polarité sexuelle des Armillaires du groupe *mellea* 301
HINZELIN F. & LECTARD P. — Microflore de la phyllosphère de quelques végétaux halophiles 333
HORAK E. — New taxa of *Entoloma* (sect. *Callidermi*) and *Pouzaromyces* (Agaricales) 19
JANEX-FAVRE M.C. & PARGUEY-LEDUC A. — Étude ultrastructurale des asques et des ascospores du genre *Tuber*. II. Les ascospores 353
JOSSERAND M. — L'examen de débris de champignons et celui des fèces d'un intoxiqué peut-il permettre d'identifier les espèces suspectées 199
KORHONEN K. — Observations on nuclear migration and heterokaryotisation in *Armillaria* 79

Source : MNHN, Paris

KUHNER R. – Agaricales de la zone alpine : Genre *Lepiota* (Pers. : Fr.) Gray 61
LAMOURE D. – A propos de *Clitocybe rivulosa* (Pers. : Fr.) Kummer 99
LANQUETIN P. & BOIDIN J. – Obtention de mycéliums et de fructifications hybrides entre *Dichostereum durum* et *D. sordulentum* (Basidiomycètes). 375
LANQUETIN P. – voir BOIDIN J.
LECTARD P. – voir HINZELIN F.
LÉGER J.C. – *Hymenochaete nanospora* nov. sp. (Basidiomycètes, Aphyllophorales) 235
LOCQUIN-LINARD M. – Trois nouvelles espèces coprophiles de *Lasiobolidium* Malloch et Cain (Ascomycètes, Eoterfeziaceae). 283
MALENÇON G. – A propos de deux *Corditubera* nouveaux récoltés en France 1
MANJON J.L. & MORENO G. – Estudios sobre Aphyllophorales. III. Fructificaciones en *Abies pinsapo* Boiss. 145
MARTI L. & MARTI F. – *Leucopaxillus nauseosodulcis* (Karst.) Sing & Smith. . . . 105
MELOT J. – *Clitocybe pausiaca* (Fr.) Gillet, *Agaricus admissus* Britz. et *Clitocybe foetens* Melot 231
MORENO G. – voir BARRASA J.M.
MORENO G. – voir MANJON J.L.
MOSER M. – *Cortinarius raphanoides* Pers. : Fr. and related species 41
NOORDELOOS M.E. – Studies in *Entoloma*. 6 – On pinkish species in subgenus *Leptonia* 31
NORNG K. – voir SY A.A.
PARGUEY-LEDUC A. – voir JANEX-FAVRE M.C.
PEGLER D.N. – *Lentinus araucariae*, an Australasian member of the *L. badius* complex 123
PERREAU J. – *Russula coffeata* sp. nov., d'Afrique occidentale sub-équatoriale . . . 157
PETERSEN R.H. – Some perplexing problems associated with the use of FRIES's *Systema Mycologicum* as a sanctioning book 221
REIJNDERS A.F.M. – Le développement d'*Hygrotrama atropuncta* (Pers. : Fr.) Sing. 71
SAVIN V. – voir GUILLAUMIN J.J.
SINGER R. – Acanthocytes in *Amparoina* and *Mycena* 111
SINGH R.P., SINGH L. & VERMA V.S. – Interrelationships in culture among fungi isolated from Soybean 291
SINGH L. – voir SINGH R.P.
SÖDERSTRÖM B.E. – voir GAMS W.
SUBRAMANIAN C.V. & BHAT D.J. – Developmental morphology of Ascomycetes. IX. *Calonectria rigidiuscula* 269
SUN S.K. – voir YEN J.M.
SY A.A., NORNG K., ALBERTINI L. & BARRAULT G. – Recherches sur la lutte biologique contre *Pyricularia oryzae* Cav. III - Influence de la température sur l'aptitude de germes antagonistes à inhiber *in vitro* la croissance mycélienne du parasite 245
VELASTEGUI J. – voir VEGH I.
VEGH I. & VELASTEGUI J. – Étude comparée de *Marssonina* salicicoles 345
VERMA V.S. – voir SINGH R.P.
VIENNOT-BOURGIN G. – Les oïdiums du bégonia 179
WATLING R. & CHANDRA A. – Thick-walled basidia in agarics 87
YEN J.M. & SUN S.K. – Studies on parasitic fungi from South East Asia. 48. *Cercospora* and allied genera of Taiwan. VIII. 189

Dépôt légal n° 11973 - Imprimerie de Montligeon
Sorti de presses le 15 février 1984

BIBL.CU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

CRYPTOGAMIE – MYCOLOGIE

BUREAU DE RÉDACTION

MM. DURRIEU G., pour les articles traitant d'**Écologie** et de **Phytopathologie**
Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences,
Allées Jules Guesde, 31 000 Toulouse (France).

JOLY P., pour les articles traitant de **Systématique**
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle
12, rue de Buffon, 75005 Paris (France).

MANACHERE G., pour les articles traitant de **Physiologie**
Laboratoire de Mycologie, Université de Lyon I,
43, Bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex (France).

Mmes ZICKLER D., pour les articles traitant de **Cytologie**
Laboratoire de Génétique, Université de Paris Sud,
Bât. 400, Centre d'Orsay, 91405 Orsay (France).

ROQUEBERT M.F., Secrétaire de Rédaction, s'occupera des autres spécialités
Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle
12, rue de Buffon, 75005 Paris (France).

COMITÉ DE LECTURE

BOIDIN J., Lyon (France)
CHEVAUGEON J., Orsay (France)
GAMS W., Baarn (Hollande)
HENNEBERT G., Louvain-la-Neuve (Belgique)
LACOSTE L., Lille (France)
MONTANT Ch., Toulouse (France)
MOREAU Cl., Brest (France)
PEGLER D.N., Kew (Grande-Bretagne)
TURIAN G., Genève (Suisse).

Les manuscrits doivent être adressés (en 3 exemplaires) directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Chaque membre du Bureau se charge d'envoyer l'article à 2 membres du Comité de Lecture (ou autres lecteurs compétants).

Bien qu'étant avant tout une revue de langue française, les articles rédigés en Anglais, Allemand et Espagnol sont acceptés.

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le 1er fascicule de chaque tome.

Source : MNHN, Paris

- 2 AVR. 1984

ABONNEMENTS A CRYPTOGAMIE - MYCOLOGIE
Tome 5, 1984

France	210 F
Étranger	230 F

REVUE DE MYCOLOGIE

Prix des Tomes 1 à 43 :	France : 120 F	Étranger : 130 F
Collections complètes :	réduction de 20 % par tome.	
Prix du fascicule séparé :	France : 35 F	Étranger : 45 F

CRYPTOGAMIE - MYCOLOGIE

Prix des Tomes 1 à 3 :	France : 190 F	Étranger : 220 F
Prix du fascicule séparé :	France : 50 F	Étranger : 60 F

MÉMOIRES HORS-SÉRIE DISPONIBLES

N° 2 (1942). Les matières colorantes des champignons, par I. Pastac. 88 pages : 15 F.

N° 3 (1943). Les constituants de la membrane chez les champignons par R. Ulrich. 44 pages : 15 F.

N° 7 (1959). Les champignons ■ nous (Chroniques) (II), par G. Becker. 94 pages : 25 F.

N° 8 (1966). Catalogue de la Mycothèque de la Chaire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. (I) Micromycètes. Macromycètes (première partie). 68 pages : 25 F.

N° 9 (1967). Table des Matières (1936-1965) 85 p. 20 F. - (1966-1975) 40 p. 10 F.

FLORE MYCOLOGIQUE DE MADAGASCAR ET DÉPENDANCES,
publiée sous la direction de M. Roger HEIM.

Tome I. Les Lactario-Russulés, par Roger HEIM (1938) *(épuisé)*.

Tome II. Les Rhodophylles, par H. Romagnesi (1941). 164 pages, 46 fig. : 60 F.

Tome III. Les Mycènes, par Georges Métrod (1949). 144 pages, 88 fig. : 60 F.

Tome IV. Les Discomycètes de Madagascar, par Marcelle Le Gal (1953). 465 pages, 172 fig. : 90 F.

Tome V. Les Urédinées, par Gilbert Bouriquet et J. P. Bassino (1965). 180 pages, 97 fig., 4 pl. hors-texte : 60 F.

Règlements :

- *par virement postal au nom de Cryptogamie - Revue de Mycologie 12, rue de Buffon, 75005 PARIS, C.C.P. PARIS 6 193 02 K;*
- *par chèque bancaire établi au même ordre.*

Source : MNHN, Paris